

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Фармацевтичний факультет
Кафедра фармакології та клінічної фармації**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему: «ФІЗИЧНА ВИТРИВАЛІСТЬ І ДИНАМІКА МАСИ ТІЛА
ЩУРІВ З АМПУТАЦІЄЮ ЗАДНЬОЇ КІНЦІВКИ»**

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу,
групи Фм21(4,10д)-01
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
освітньо-професійної програми Фармація
Олександр МЕКЛЕНБУРЦЕВ

Керівник: завідувач кафедри фармакології
та клінічної фармації, д.мед.н., професор
Сергій ШТРИГОЛЬ

Рецензент: професор ЗВО кафедри клінічної
фармакології ІПКСФ НФаУ, д.фарм.н., професор
Оксана МІЩЕНКО

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційну роботу присвячено експериментальному дослідженню фізичної витривалості та динаміки маси тіла щурів з транстібіальною ампутацією на рівні нижньої третини гомілки в щурів. Встановлено, що фізична витривалість тварин у тесті плавання з навантаженням значно зменшилася (в 1,6 разу в ранньому та в 1,8 у віддаленому постампутаційному періоді, $p < 0,05$), а маса тіла щурів після ампутації задньої кінцівки протягом 2 місяців значно зросла (в середньому на 22% проти 4% у контролі, $p < 0,01$). Отримані результати експериментально обґрунтовують напрями реабілітаційних заходів пацієнтів з ампутацією нижньої кінцівки.

Ключові слова: фізична витривалість, динаміка маси тіла, щури, експеримент.

ANNOTATION

The qualification work is devoted to an experimental study of physical endurance and body weight dynamics in rats with transtibial amputation at the level of the lower third of the hindlimb. It was established that the physical endurance of animals in the weighted swimming test significantly decreased (by 1.6 times in the early and by 1.8 times in the late post-amputation period, $p < 0.05$), while the body weight of rats after hind limb amputation significantly increased over a period of 2 months (on average by 22% compared to 4% in the control group, $p < 0.01$). The obtained results experimentally substantiate the directions of rehabilitation measures for patients with lower limb amputation.

Keywords: physical endurance, body weight dynamics, rats, experiment.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ФІЗИЧНУ ВИТРИВАЛІСТЬ ТА ЗМІНИ МАСИ ТІЛА ПРИ АМПУТАЦІЇ НИЖНЬОЇ КІНЦІВКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	8
1.1 Ампутації нижньої кінцівки – актуальна проблема сьогодення.....	8
1.2 Стан фізичної витривалості осіб з ампутацією нижньої кінцівки.....	9
1.3 Динаміка маси тіла пацієнтів після ампутації нижніх кінцівок.....	12
1.4 Тваринні моделі ампутації нижньої кінцівки	14
1.5 Відомості про зміни фізичної витривалості та маси тіла тварин із модельною ампутацією кінцівок	17
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	21
2.1 Експериментальні тварини	21
2.2 Моделювання транстібіальної ампутації у щурів	21
2.3 Методи дослідження динаміки маси тіла та фізичної витривалості щурів	24
2.4 Методи статистичного аналізу	27
РОЗДІЛ 3 ДИНАМІКА ФІЗИЧНОЇ ВИТРИВАЛОСТІ ЩУРІВ ІЗ МОДЕЛЛЮ ТРАНСТІБІАЛЬНОЇ АМПУТАЦІЇ	29
3.1. Динаміка фізичної витривалості щурів із моделлю транстібіальної ампутації.....	29
3.2. Динаміка маси тіла щурів із моделлю транстібіальної ампутації	31
РОЗДІЛ 4 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	34
ВИСНОВКИ.....	39
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	41
ДОДАТКИ	47

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Індекс маси тіла — ІМТ

Скоригований індекс маси тіла — СІМТ

ВСТУП

Актуальність теми. У сучасних умовах ампутації нижніх кінцівок залишаються однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем, що зумовлено високою частотою їх виникнення внаслідок травматичних ушкоджень, судинних захворювань, ускладнень цукрового діабету, інфекційних процесів та онкологічних патологій. В Україні ця проблема загострена військовим вторгненням країни агресора на сході та загальним збільшенням військових конфліктів у світі за останнє десятиліття. Військові конфлікти призводять до значного збільшення потреб у ампутації, характер яких звичайно відрізняється від ампутацій мирного часу [1-2].

Ампутація нижньої кінцівки супроводжується комплексом глибоких функціональних змін в організмі. Втрата частини опорно-рухового апарату призводить до порушення біомеханіки рухів, зниження фізичної активності, зміни характеру навантаження на інші відділи тіла та формування компенсаторних механізмів. Зниження витривалості ускладнює процес реабілітації, обмежує повсякденну активність пацієнтів і знижує якість їхнього життя [3].

Не менш важливим аспектом є зміни маси тіла після ампутації. Динаміка маси тіла відображає метаболічні перебудови організму, що виникають у відповідь на втрату кінцівки та зміну рівня фізичної активності. На ранніх етапах після ампутації часто спостерігається зниження маси тіла, пов'язане зі стресовою реакцією організму та післяопераційними змінами. У подальшому, внаслідок зниження рухової активності, у багатьох випадках формується тенденція до збільшення маси тіла, що може негативно впливати на стан серцево-судинної системи, ускладнювати процес протезування та знижувати ефективність реабілітаційних заходів [4-6].

У зв'язку з цим особливого значення набувають експериментальні дослідження на лабораторних тваринах. Використання моделей ампутації кінцівок, зокрема у щурів, дозволяє вивчати механізми адаптації організму

до втрати кінцівки в контрольованих умовах. Такі моделі дають можливість комплексно оцінювати зміни фізичної витривалості, рухової активності, маси тіла, що є складним для дослідження у клінічній практиці [7-8].

Незважаючи на наявність значної кількості наукових робіт, питання особливостей динаміки фізичної витривалості та маси тіла за ампутації кінцівок залишаються недостатньо вивченими. Особливо це стосується експериментальних досліджень, спрямованих на комплексну оцінку цих показників у тварин з модельною ампутацією кінцівок. Недостатність систематизованих даних у цьому напрямі обґрунтовує необхідність проведення подальших досліджень.

Мета дослідження. Оцінити динаміку маси тіла та фізичну витривалість у щурів з транстібіальною ампутацією на рівні нижньої третини гомілки.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі **завдання**:

1. Запропонувати модель транстібіальної ампутації на рівні нижньої третини задньої кінцівки у щурів.
2. Оцінити зміни фізичної витривалості у щурів у ранньому та віддаленому постампутаційному періоді.
3. Оцінити зміни маси тіла у щурів у динаміці постампутаційного періоду.
4. Проаналізувати та узагальнити отримані результати.

Об'єкт дослідження — білі щури з модельною ампутацією задньої кінцівки.

Предмет дослідження — фізична витривалість та динаміка маси тіла щурів.

Методи дослідження — хірургічні (ампутація задньої кінцівки в щурів), фармакологічні (тест плавання з навантаженням до виснаження), метрологічні (зважування тварин), статистичні (непараметричний аналіз критеріями Манна-Вітні та Вілкоксона).

Практичне значення одержаних результатів. Результати можуть бути застосовані для подальших поглиблених експериментальних досліджень, а також екстрапольовані на клінічну практику, зокрема для оптимізації реабілітаційних заходів у військовослужбовців та інших груп населення з ампутацією нижньої кінцівки.

Наукова новизна. Вперше було комплексно експериментально оцінено зміни фізичної витривалості та динаміки маси тіла щурів із транстібіальною ампутацією на рівні нижньої третини гомілки. Вперше кількісно охарактеризовано зниження фізичної витривалості у тесті плавання з навантаженням як у ранньому, так і у віддаленому постампутаційному періодах, а також встановлено суттєве збільшення маси тіла протягом двомісячного спостереження. Виявлено взаємозв'язок між втратою кінцівки, зниженням рухової активності та метаболічними змінами в організмі, що створює експериментальне підґрунтя для вдосконалення реабілітаційних заходів у пацієнтів з ампутацією нижньої кінцівки.

Публікації за темою роботи. Rat transtibial hindlimb amputation model: characteristic of the central nervous system functional state, physical endurance and body mass in dynamic / M. Hutorka et al. *ScienceRise: Pharmaceutical science*. 2024. №.6(52). P.27–36 DOI: 10.15587/2519-4852.2024.318008

Апробація результатів роботи. Основні положення роботи викладено та обговорено на V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «YOUTH PHARMACY SCIENCE» (Харків, 10-11 грудня 2024 р.)

Структура та обсяг роботи: Робота складається зі вступу, 4 розділів, висновків, списку літературних джерел і додатків. Загальний обсяг становить 40 сторінок, включає 2 таблиці, 6 рисунків та 51 посилання на літературні джерела, з яких 10 кириличною графікою, 41 — латинською.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ФІЗИЧНУ ВИТРИВАЛІСТЬ ТА ЗМІНИ МАСИ ТІЛА ПРИ АМПУТАЦІЇ НИЖНЬОЇ КІНЦІВКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Ампутації нижньої кінцівки – актуальна проблема сьогодення

Ампутація кінцівки – це видалення кінцівки чи її частини через травму, тривале стискання або іншу причину. Через велику кількість хронічних захворювань та воєнних конфліктів, що важливо для сучасної України, ампутації залишаються актуальною проблемою сучасної медицини. Втрата кінцівки призводить до погіршення самопочуття, обмеження рухової активності. До того ж, погіршується статика тіла, центр тяжіння зміщується в бік неушкодженої кінцівки, що призводить до викривлень хребта, відбувається атрофія м'язів кукси та зменшується працездатність [9]. Окрім фізичних, особливо важливими є психологічні наслідки ампутації, такі як: фантомний біль, підвищена тривожність та депресивні прояви (насамперед у перші роки після ампутації), погіршення взаємовідносин з оточенням, неможливість займатися звичним дозвіллям через фізичні обмеження [10].

Як відомо, в мирний час найчастішими причинами ампутації є: ускладнення цукрового діабету, ураження судинного русла різної етіології, автодорожні, виробничі чи побутові травми, глибокі великі опіки, злоякісні новоутворення, деякі інфекції, вроджені аномалії та вади розвитку, вогнепальні поранення [1].

Наразі же ситуація ускладнюється повномасштабним вторгненням на сході та півдні нашої країни. У 2023 році потреба у протезуванні серед цивільного населення зросла на 15%, серед військових – у 5 разів. Загальна кількість людей, що втратили кінцівку, перевищує 50 тисяч людей [11]. Здебільшого уражень зазнають нижні кінцівки – співвідношення ампутації верхньої кінцівки до нижньої становить 35% до 65% [12].

Такі ампутації, що виконуються військовим у фронтових та прифронтових умовах, досить часто мають додаткові ускладнення. Хірургічно правильному утворенню кукси можуть заважати множинні травми, процес евакуації бійця з поля бою медиками або побратимами, необхідність перевезення пораненого до шпиталів у тилу або особливість умов, за яких виконувалась ампутація [2].

У ранньому післяопераційному періоді потрібно навчити пацієнта технік позиціонування для профілактики ускладнень, пов'язаних із тривалою іммобілізацією. До них належать пролежні, пневмонії, тромбози тощо. Потрібно зберегти наявний обсяг руху в суглобах, забезпечити профілактику контрактур [3]. Це не завжди можливо в умовах прифронтових шпиталів, що призводить до потреби приділяти більше уваги цим пацієнтам потім.

Водночас з цим, нещодавні дослідження підкреслюють недостатність комплексної, індивідуалізованої та науково обґрунтованої програми фізичної терапії для осіб з транстібіальною ампутацією нижньої кінцівки у періоді підготовки до протезування [13]. З урахуванням недостатньої інформованості пацієнтів про доцільність протезування та можливі види протезів [14], не завжди достатній рівень підготовки фахівців протезистів [15], це свідчить про необхідність подальших досліджень стану людини у ранньому післяопераційному періоді та періоді підготовки до протезування.

Таким чином, зараз перед Україною постав виклик надати правильну та високоякісну медичну допомогу найбільшій кількості пацієнтів з ампутацією, що зареєстровано за весь час існування нашої держави.

1.2 Стан фізичної витривалості осіб з ампутацією нижньої кінцівки

Фізична витривалість – це один з основних показників для оцінки функціонального стану організму після ампутації. Втрата кінцівки призводить до значних змін у біомеханіці рухів, вимагає від людей з ампутацією значно більших зусиль для підтримки балансу та пересування навіть при використанні протезу. Під час ходьби значна частина

навантаження переноситься на неушкоджену кінцівку, що призводить до зміни характеру пересування, залучення нетипових груп м'язів для компенсації ампутації [16].

Загальними завданнями реабілітаційної допомоги під час гострого реабілітаційного періоду є: надання реабілітаційної допомоги низького або середнього обсягу з метою підтримання чи відновлення найвищого можливого рівня функціонування особи, активності та участі; поступове підвищення толерантності до навантажень і витривалості пацієнта; реалізація протоколу вертикалізації; навчання переходу у положення сидячи, тренування рівноваги та навичок переміщень; підбір, налаштування, навчання використанню та надання допоміжних засобів реабілітації з метою первинної вертикалізації, початок формування кукси та її підготовка до подальшого протезування [3].

До цих вправ відносять вправи на ізометричне навантаження для збережених сегментів ампутованої кінцівки й усічених м'язів, вправи для здорової кінцівки, рухи тулубом. З метою профілактики викривлень хребта застосовують загальнозміцнювальні, коригувальні вправи, вправи на збільшення сили й витривалості м'язів верхнього плечового поясу. Після зняття швів розпочинають підготовку кукси до протезування. Заняття спрямовані на формування опорної здатності кукси, розширення обсягу рухів. М'язи кукси повинні мати здатність скорочуватися, а сила скорочень має бути максимально великою. Для цього відновлюють рухливість у збережених суглобах ампутованої кінцівки [17].

Розглядаючи фізичну витривалість, має сенс звертати увагу на пацієнтів, які вже отримали протез або його аналог, через те, що більшість тестів, такі як тест «Встань і йди» з засіканням часу, L-тест, 6-хвилинний тест ходьби та ін., спрямованні на людей, що здатні самотійно ходити. Часто перед використанням постійного протезу пацієнт користується тимчасовим протезом [3].

Оволодіння протезом включає три етапи. Перший етап – навчають стояти з рівномірною опорою на обидві кінцівки, переносу маси тіла у фронтальній площині. Другий етап – навчають переносу маси тіла в сагітальній площині, проводять тренування опорної й переносної фази кроку протезованою та збереженою кінцівкою. Третій етап – засвоєння навичок рівномірних крокових рухів. У подальшому – пересування по похилій площині, по сходах, по пересіченій місцевості, повороти [9].

Як відомо, за результатами тесту ходьби на 10 метрів із засіканням часу, L-тесту можна визначити середню кількість шагів людини за день. Також 6-хвилинний тест ходьби позначено як ефективний метод оцінки витривалості (аеробного насичення). Ці тести допомагають визначити, чи веде людина малорухливий спосіб життя [18]. В осіб похилого віку, що перенесли ампутацію внаслідок судинної недостатності, відзначається нижчий рівень аеробного насичення в порівнянні як зі здоровими особами, так і з пацієнтами після травматичної ампутації [19].

Нещодавнє дослідження показує, що у пацієнтів із виразним ожирінням ($IMT > 40 \text{ кг/м}^2$) після ампутації нижньої кінцівки відзначається зниження функціональної незалежності за низкою показників порівняно з іншими групами. Зокрема, показники гігієни були на 7–13% нижчими, здатність до переміщення в ліжку (перехід у положення лежачи та сидячи) — на 8–9% нижчою, а виконання рухів «сісти-встати» та переходу до туалету — на 16–21% та 12–20% гіршими відповідно. Найбільші труднощі спостерігалися при ходьбі, де результати були на 7–27% нижчими, а також при пересуванні на інвалідному візку. Крім того, у пацієнтів із $IMT > 40 \text{ кг/м}^2$ тривалість госпіталізації була більшою (15,0 проти 13,3 днів), а ймовірність виписки додому — нижчою. Данні цього дослідження свідчать, що виразне ожиріння ускладнює процес реабілітації, потребує додаткових ресурсів і підтримки при поверненні пацієнтів до повсякденного життя та ускладнює відновлення рівня фізичної витривалості [20].

До того ж було підтверджено, що на стан фізичної витривалості у людей з ампутацією нижньої кінцівки суттєво впливають регулярні фізичні тренування. Тренування допомагають підвисити силу м'язів, гнучкість та швидкість ходьби. Але разом з цим було підмічено, що загальна фізична форма не поліпшує впевненість у підтримці балансу та координації. Для поліпшення цих результатів потрібні вправи, що залучають збережені групи м'язів ампутованої кінцівки. Спираючись на вищенаведене, автори дослідження пропонують такий алгоритм тренувань: поєднання аеробних вправ із силовими вправами на м'язи (з акцентом на такі групи: відвідні м'язи стегна, розгиначі коліна) до 1 години на день 3-5 разів на тиждень [21].

У публікації [22] відмічено, що досягнення кращих показників ходьби та енергоефективності значною мірою пов'язано з проходженням комплексної реабілітаційної програми. Автори наголошують, що якість та повнота реабілітації можуть відігравати не просто не менш важливу, а інколи й визначальну роль порівняно з вибором протезних засобів.

Виявлено кореляцію між висотою ампутації та енергетичними витратами організму, швидкістю пересування. Зі збільшенням висоти ампутації зростає тенденція до збільшення енерговитрат та уповільнення комфортного темпу ходьби [23]. Це свідчить про погіршення фізичної витривалості в залежності від типу та рівня ампутації.

1.3 Динаміка маси тіла пацієнтів після ампутації нижніх кінцівок

Зміни маси тіла є важливим показником стану здоров'я пацієнтів після ампутації нижніх кінцівок. Динаміка маси тіла після ампутації є неоднорідною та залежить від багатьох факторів, таких як рівень ампутації, фізична активність, наявність супутніх захворювань та особливості перебігу реабілітації.

Безпосередньо після ампутації у пацієнтів спостерігається природне зменшення маси тіла, що пов'язано з втратою частини кінцівки. У багатьох випадках у перші місяці після операції відзначається зниження маси тіла, що

зумовлено втратою кінцівки, післяопераційним стресом, зменшенням апетиту [24].

Навіть при використанні СІМТ тенденція залишається аналогічною, що показано у дослідженні 2012 року. Також відмічено, що вищий передопераційний ІМТ асоціювався з меншою тривалістю ходьби з використанням протеза через 4 місяці та гіршою загальною мобільністю через 12 місяців [5].

У більш віддаленому періоді часто спостерігається тенденція до збільшення маси тіла. Це пов'язано насамперед зі зниженням рівня фізичної активності. Багато пацієнтів після ампутації тривалий час мають обмежену мобільність через необхідність загоєння кукси, адаптацію до протеза та психологічні труднощі. У результаті формується малорухливий спосіб життя, що сприяє накопиченню надлишкової маси тіла [25].

Дослідження 2015 року демонструє, що пацієнтів за динамікою маси тіла після ампутації можна поділити на 4 групи: швидке збільшення ваги, повільне збільшення ваги, відсутність змін у вазі та зменшення ваги. Збільшення маси в чоловіків після ампутації нижньої кінцівки було значно виразнішим, ніж у чоловіків, які не мали ампутації, та в середньому сягало 9% на другий рік після ампутації на транстібіальному рівні. Також була помітна відмінність між людьми, в яких ампутація була на рівні ступні, та тими, хто мав ампутацію на транстібіальному рівні та вище. Ті, хто мали ампутацію на рівні ступні, мали менший приріст маси тіла, що пов'язують з більшою загальною мобільністю. В той же час, люди з трансфеморальною або транстібіальною ампутацією найбільш ймовірно належали до групи повільного збільшення маси тіла та лише 13% усіх опитаних належали до категорії людей, у яких відмічено зменшення ваги [26].

Пацієнти, яким ампутували кінцівку через кардіоваскулярні хвороби, значно частіше мали вищий ІМТ, ніж середня популяція, та на наступний рік вже мали більший ІМТ порівняно з показником до операції. Виявлено тенденцію до зменшення годин пересування на день та погіршення

мобільності в пацієнтів, що до операції мали більший ІМТ. Автори не відмічають залежності зміни маси тіла від рівню ампутації [5].

У дослідженні, що охоплювало 16 259 пацієнтів із нетравматичними ампутаціями нижніх кінцівок, було виявлено V-подібний розподіл частоти ампутацій залежно від ІМТ: 30,4% — у пацієнтів без ожиріння, 18,2% — з ожирінням I ступеня, 17,3% — II ступеня та 34,1% — III ступеня. Ймовірність бути хворим на цукровий діабет зростала зі збільшенням ступеня ожиріння, тоді як поширеність периферичних судинних захворювань зменшувалась. Автори статті відмічають дуже цікаву закономірність — хоча захворювання на цукровий діабет значно збільшувало ризик ампутації, серед пацієнтів із цукровим діабетом встановлено обернений зв'язок між ІМТ та частотою ампутацій, тому вони відносять високий ІМТ до захисних факторів від ампутації нижньої кінцівки [27].

Результати досліджень пацієнтів після ампутації через наявність травми демонструють поступове збільшення маси тіла протягом перших років після операції, і тенденція на збільшення маси тіла превалює в осіб з вищим рівнем ампутації, що може бути пов'язано з гіршою загальною мобільністю [28].

Також потрібно звернути увагу на те, як особи з ампутацією можуть неправильно інтерпретувати результати зважувань та свою динаміку маси тіла. Наприклад, у нещодавній статті було показано, що пацієнти з ампутацією, які за звичайним показником ІМТ не були у категорії людей з ожирінням та не використовували спеціальну дієту для схуднення, належали до категорії товстих людей за використання СІМТ для осіб з ампутацією [29].

1.4 Тваринні моделі ампутації нижньої кінцівки

Ампутація нижньої кінцівки — це дуже складне та небезпечне для організму людини хірургічне втручання. Лікарі виконують її, коли вже немає іншого вибору для збереження життя пацієнта. З огляду на це більшість наукових досліджень на людях проводять після того, як їм зробили ампутацію

з наявних медичних показань. Тому саме власний вплив ампутації на організм та самопочуття доцільно з'ясовувати на здорових лабораторних тваринах. Їх використання дає можливість моделювати різні типи ушкоджень опорно-рухового апарату та нервової системи в контрольованих умовах та аналізувати процеси регенерації тканин, адаптаційні механізми організму, а також зміни у функціонуванні різних систем після втрати кінцівки.

Здебільшого моделі ампутацій у тварин використовують для дослідження людських хвороб, таких як ішемія або тромбоз [30], або моделювання постампутаційних ускладнень, таких як хронічний біль, фантомний біль, гіперчутливість, формування невром тощо. Досить часто на тваринних моделях є можливість провести гістологічні дослідження через визначені проміжки часу після ампутації, що здебільшого неможливо у людей [7, 8, 31].

У ветеринарній практиці досить розповсюдженими є ампутації у домашніх тварин, таких як кішки та собаки. Ці методики є досить поширеними та використовуються для лікувальних цілей [32]. Такі ампутації рекомендують і для домашніх кролів зі схожими хворобами, але через меншу їх кількість у небагатьох дослідженнях приділяли увагу одужанню та максимальному відновленню функцій опорно-рухового апарату. Більшість досліджень на кролях мають на меті моделювання хвороб людини, тому після завершення дослідів тварин з урахуванням вимог біоетики піддавали евтаназії [33].

Не як експериментальна модель, а як захід хірургічного лікування описано ампутації кінцівок у дрібної рогатої худоби, зокрема вівець і кіз. Причинами ампутації кінцівок у вівець і кіз були травматичні ушкодження (переломи, укуси собак, травми від огорож), а також інфекційні та дегенеративні захворювання (остеомієліт, остеоартрит). Середня тривалість госпіталізації становила 7,5 днів у кіз (1–63 дні) та 8 днів у вівець (3–20 днів). Більшість післяопераційних ускладнень виникали понад 2 місяці після ампутації та включали порушення координації рухів, ураження сухожиль,

нестабільність контралатеральної кінцівки, хронічну кульгавість, періодичний біль і деформації кінцівок. Встановлено, що частота післяопераційних ускладнень не залежала від маси тіла, віку тварин або рівня ампутації. Загалом клінічні результати після ампутації були різні та залежали від конкретного випадку. Ампутація розглядається як необхідний метод лікування у випадках, коли збереження кінцівки неможливе, однак тварина після ампутації потребує належного післяопераційного догляду, зокрема застосування реабілітаційних заходів [34]. Загалом ампутація кінцівок у дрібних жуйних тварин застосовується нечасто, але є потенційно ефективною альтернативою евтаназії у випадках тяжких необоротних уражень кінцівок [35].

Як експериментальна модель ампутації кінцівок у дрібної рогатої худоби застосовується амніотична перетяжка кінцівки у 60-денних ембріонів кіз. Ця модель відтворює патологічні зміни, подібні до тих, що спостерігаються у людського плода, та запропонована для подальших експериментальних досліджень внутрішньоутробного збереження кінцівок при тяжких амніотичних ураженнях у плодів цих тварин [36].

Найчастіше у дослідженнях використовують гризунів, зокрема щурів і мишей. Щури є одним з найбільш поширених експериментальних об'єктів у біомедичних дослідженнях завдяки своїм анатомічним і фізіологічним особливостям, невеликій вартості утримання та зручності проведення маніпуляцій.

Фантомний біль є одним із найбільш поширених ускладнень після ампутації кінцівки у людей, тому тваринні моделі ампутації використовуються для дослідження механізмів його розвитку. Для цього можуть використовувати ін'єкції формаліну до ампутації, або перев'язування нерву, що наближає цю модель до клінічного розвитку фантомного болю у людей [8]. Існують моделі ампутації для оцінки хронічного болю та методів боротьби з ним, такими як цільова м'язова іннервація [37].

Крім того, тваринні моделі використовуються для дослідження процесів регенерації нервів і м'язів після ампутації, вивчають можливі засоби уходу за куксою та темпи регенерації, загальний стан кінцівки. Також, одним із перспективних досліджень в цьому напрямку є реплантація кінцівок. Декілька статей детально описували процес реплантації та можливої презервації кінцівки [38].

Важливим аспектом використання тваринних моделей є можливість дослідження поведінкових та соматичних реакцій тварин. У декількох дослідженнях після ампутації оцінювали депресивну поведінку щурів за допомогою таких методів як тест на споживання сахарози або плавальний тест Порсолта [7].

Незважаючи на значні переваги, використання тваринних моделей має певні обмеження. Фізіологічні особливості лабораторних тварин відрізняються від особливостей людського організму, тому результати експериментів не завжди можуть бути безпосередньо перенесені в клінічну практику.

1.5 Відомості про зміни фізичної витривалості та маси тіла тварин із модельною ампутацією кінцівок

Дослідження показують, що після ампутації тварини зберігають здатність до пересування та можуть швидко адаптуватися до нових умов навантаження, хоча їх рухова активність на початкових етапах знижується. Це суттєво відрізняється від ампутацій нижньої кінцівки у людей, котрі майже не можуть самостійно рухатись без установки протезу. [7]

Після втрати кінцівки у тварин спостерігається перерозподіл навантаження на інші кінцівки, що вкупі із загальним зменшенням рухової активності призводить до атрофії м'язів кукси та зменшення дослідницької діяльності. Але через особливості пересування у тварин зберігається значна частина фізичних можливостей, що дозволяє підтримувати рухову активність навіть після значного порушення структури опорно-рухової системи. Навіть у

кролів, що потребують гарного балансу через особливості пересування, здебільшого не виникало проблем з адаптацією до пересування. Помітні проблеми були лише в тих, хто до цього вже мав хвороби опорно-рухової системи або був до них схильним. [33]

Важливим показником адаптації організму до втрати кінцівки є фізична витривалість. З часом, більшість тварин демонструє поступове відновлення рухової активності. Тварини після ампутації кінцівки можуть швидко адаптуватися до три-опорного способу пересування. Вони використовують залишені кінцівки для підтримання рівноваги та виконання рухових функцій. Багато власників домашніх тварин, яким зробили ампутацію, відмічають досить короткий період адаптації після ампутації [39]. Для домашніх тварин з ампутацією проводять тренувальні сесії, що їх скеровано на збільшення сили м'язів та поліпшення координації рухів. Виконуються вправи на зміцнення глибоких м'язів тулуба, вправи на розтягування, ходьба у воді, ходьба по нерівній поверхні. Ці вправи допомагають тваринам швидше адаптуватися, уникати травм під час повсякденного життя, уникати можливих ускладнень, таких як хронічні хвороби суглобів, та підтримувати фізичну форму у післяопераційному періоді [40]. Звертаючи увагу на вищенаведене, можна зробити висновок, що хоча домашні тварини швидко адаптуються до ампутації, вони все одно проходять через період зниження фізичної витривалості, щонайменше в гострому післяопераційному періоді.

Нещодавні дослідження відмічає, що собаки, які адаптувалися до ампутації, хоча й майже не відрізняються від контрольної групи здатністю тримати баланс, їхня здорова кінцівка була під значно вищим тиском, що призводить до підвищеного ризику травм [41].

Після ампутації у тварин розвивається м'язова атрофія та знижується щільність кісток з боку ампутованої кінцівки [42]. Загальна динаміка маси тіла після ампутації ще недостатньо вивчена. У ветеринарній практиці власникам тварин з ампутацією наполегливо рекомендується слідкувати за правильним харчуванням та не давати їм набирати зайву вагу, що вкупі із

загальною тенденцією домашніх тварин мати зайву масу тіла ускладнює аналіз динаміки цього показника після ампутації [43, 44].

Таким чином, результати експериментальних досліджень свідчать, що ампутація кінцівки в лабораторних тварин супроводжується комплексом фізіологічних змін, серед яких важливе місце посідають зміни фізичної витривалості та маси тіла. У перші дні після операції спостерігається зниження фізичної активності та маси тіла, однак у подальшому більшість тварин демонструє поступову адаптацію до нових умов функціонування.

Висновки до розділу 1

1. Ампутації нижньої кінцівки є актуальною медичною проблемою сьогодення, що виникає внаслідок травматичних ушкоджень, судинних захворювань, ускладнень цукрового діабету та інших патологічних станів.

2. Для сучасної України у зв'язку з тривалою повномасштабною агресивною війною росії проти нашої держави проблема поліпшення реабілітації осіб з ампутаціями кінцівок є особливо актуальною через значне збільшення кількості бойових та небойових травм, що призводять до втрати кінцівки.

3. В осіб з ампутацією нижньої кінцівки спостерігається зниження фізичної витривалості, що зумовлено обмеженням рухової активності, зміною біомеханіки рухів та необхідністю формування компенсаторних механізмів.

4. Після ампутації нижніх кінцівок відбуваються зміни маси тіла в бік збільшення, що пов'язано з компенсаторними механізмами організму та зменшенням рівня фізичної активності.

5. У наукових дослідженнях для вивчення механізмів постампутаційних змін в організмі та адаптаційних процесів використовуються тваринні моделі ампутації, з яких є значно поширені моделі ампутації у щурів.

6. Експериментальні дослідження та досвід ветеринарної медицини свідчать, що модельна ампутація кінцівки супроводжується змінами фізичної витривалості та маси тіла, які віддзеркалюють процеси адаптації організму до втрати кінцівки.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Експериментальні тварини

Дослідження виконано в Навчально-науковому інституті прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Протокол експериментів схвалено комісією з біоетики НФаУ (протокол № 13 від 13.03.2024). Він відповідає вимогам Гельсінської декларації щодо гуманного поводження з тваринами (2000) і Директиви Ради Європейського Союзу щодо захисту тварин, які використовуються в наукових цілях (2010) [45].

В експериментах використано 15 дорослих білих рандомбредних щурів-самців віком 7–8 місяців, масою 230–310 г (визначали за допомогою електронних ваг з точністю до 1 г). Обмежену кількість ампутованих щурів (6) було використано з біоетичних міркувань.

Тварин утримували на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до води, за постійної вологості 50-60% та температурного режиму +22–23°C, в умовах режиму «світло/темрява» 12/12 годин.

2.2 Моделювання транстібіальної ампутації у щурів

Транстібіальну ампутацію на рівні нижньої третини задньої кінцівки виконували в асептичних умовах під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньоочеревинно). Для ампутації взято 6 щурів з біоетичних міркувань.

Цей мінімально прийнятний розмір вибірки обґрунтовується оцінкою достатнього розміру ефекту ($D = 2,0\text{--}2,5$) згідно з Фестінгом та Альтманом [46]. Величина D залежить від налаштування експерименту на виявлення різниці в середньому значенні певного параметра за певного значення його стандартного відхилення та дорівнює результату ділення бажаного рівня різниці середніх значень на їхнє стандартне відхилення ($D = \text{потрібний рівень різниці середніх значень} / \text{стандартне відхилення}$).

З огляду на малий розмір тварин використовували офтальмологічні пінцети (рис. 2.1).



Рис. 2.1. Видалений фрагмент кінцівки після транстібіальної ампутації в щура.

Для гемостазу застосовували електрокоагулятор.

Нервові стовбури перетинали під незначним натягом для мінімізації ризику розвитку нейропатичного болю в післяопераційному періоді. Після перетину край кістки ретельно згладжували. Формували куксу конічної форми. З метою закриття рани формували міофасціокутанний клапоть, ушивали м'язи із застосуванням техніки міопластики, а також шкіру. Після закінчення хірургічного втручання щурам внутрішньоочеревинно вводили цефтріаксон (250 мг/кг) з метою запобігання інфекційним ускладненням.

В очікуванні виходу з наркозу та для подальшого утримання щурів розміщували в індивідуальні стандартні пластикові бокси (рис. 2.2).



Рис. 2.2. Щур безпосередньо після транстібіальної ампутації під час виходу з наркозу

Тварини мали вільний доступ до гранульованого корму та питної води.

Кількість контрольних щурів була більшою з метою зменшення дисперсії результатів.

Для першого порівняння у ранньому постампутаційному періоді (3–4 дні після операції) для контролю використовували 9 тварин тієї ж статі, подібного віку та початкової маси тіла, яким вводили анестетик і цефтріаксон у тих самих дозах без проведення хірургічного втручання для згладжування можливого впливу анестезії та антибіотикопрофілактики.

У віддаленому періоді (через 2 місяці) використовували 11 контрольних щурів, 9 з яких брали участь у першому дослідженні, а 2 інтактних щурів було взято додатково. Контрольних тварин утримували в аналогічних умовах і годували так само, як і тварин з ампутацією.

2.3 Методи дослідження динаміки маси тіла та фізичної витривалості щурів

Динаміку маси тіла вимірювали методом зважування за допомогою електронних ваг перед ампутацією та у віддаленому постампутаційному періоді – через 2 місяці (рис. 2.3).

Фізичну витривалість щурів досліджували за допомогою тесту примусового плавання з навантаженням [47]. Навантаження 5% маси тіла закріплювали біля кореня хвоста (рис. 2.4).

Зазвичай у цьому тесті використовують навантаження 10% маси тіла, але з огляду на специфіку цього експерименту — знижені фізичні можливості тварин з ампутацією кінцівки — масу навантаження було зменшено до 5%. Для тестування використовували басейн круглої форми діаметром 50 см, глибиною 60 см та висотою бортів над рівнем води 10 см, що унеможливило порятунок щурів шляхом виходу з басейну (рис. 2.5).

Басейн заповнювали відстояною водопровідною водою кімнатної температури (21-22°C).



Рис. 2.3. Зважування щура



Рис. 2.4. Вантаж, закріплений на корені хвоста щура перед тестом плавання з навантаженням



Рис. 2.5. Щур у тесті плавання з навантаженням до виснаження

Час плавання вимірювали до моменту виснаження, коли щури занурювалися під воду і не могли спливи на поверхню щонайменше протягом 10 секунд. Для реєстрації часу плавання використовували електронний секундомір.

Фізичну витривалість тварин досліджували двічі: у ранньому (через 4 доби) та віддаленому (через 2 місяці) постампутаційному періодах з метою оцінки динаміки зазначеного показника. З огляду на можливу залежність результатів від хронофармакологічного чинника контрольних щурів тестували в той же день, що й тварин з ампутацією. Це дозволяло отримати синхронні результати.

2.4 Методи статистичного аналізу

Для статистичної обробки кількісних даних використовували програми STATISTICA v12.0 та Excel. Статистичну значущість міжгрупових відмінностей визначали за допомогою непараметричного критерію Манна–Вітні. Парний критерій Вілкоксона застосовували для оцінки динаміки досліджуваного показника в межах групи. Зміни при $p < 0,05$ вважали статистично значущими. Результати подано у вигляді $M \pm m$ та $Me [Q25; Q75]$. Для врахування результатів в альтернативній формі (наявність/відсутність ознаки) результати подавали у %, а також використовували кутове перетворення Фішера.

Висновки до розділу 2

1. Для здійснення експерименту визначено об'єкти дослідження.
2. Обґрунтовано вибір моделі транстібіальної ампутації задньої кінцівки в щурів.
3. Для оцінки фізичної витривалості обрано метод плавання з навантаженням до виснаження, модифікований в аспекті величини навантаження відповідно до обмежених фізичних можливостей тварин з ампутацією.

4. Обрано методи статистичного аналізу отриманих результатів відповідно до характеру розподілу у варіаційних рядах.

РОЗДІЛ 3

ДИНАМІКА ФІЗИЧНОЇ ВИТРИВАЛОСТІ ЩУРІВ ІЗ МОДЕЛЛЮ ТРАНСТІБІАЛЬНОЇ АМПУТАЦІЇ

3.1. Динаміка фізичної витривалості щурів із моделлю транстібіальної ампутації

Усі тварини добре перенесли хірургічне втручання і швидко відновилися після дії анестезії. Ранні та пізні післяопераційні ускладнення у щурів не спостерігалися протягом усього двомісячного періоду експериментальних досліджень.

Вже безпосередньо після виходу із наркозу тварини виявляли спонтанну рухову активність, починали самотійно пересуватися, а на другий день після оперативного втручання всі щури вільно переміщувалися у межах своїх кліток без зовнішніх ознак виразного дискомфорту.

Кукса у всіх щурів у ранньому постампутаційному періоді перебувала у задовільному стані, що характеризувалося відсутністю ознак запалення та інших ускладнень з боку операційної рани. Спостерігалось первинне загоєння рани, а також поступове відновлення волосяного покриву в ділянці кукси.

Водночас відзначалось поступове формування м'язової гіпотрофії, що пов'язано зі зниженням функціонального навантаження на кінцівку. Вже через кілька днів після оперативного втручання у частини тварин кукса набувала вигляду вкороченої та підтягнутої до тазу. Зазначені зміни свідчать про поступовий розвиток такого ускладнення як згинальна контрактура кульшового суглоба.

Під час подальшого перебігу постампутаційного періоду ці зміни мали тенденцію до посилення, що наведено на рис. 3.1.



Рис. 3.1. Гіпотрофія м'язів кукси щура з транстібіальною ампутацією в пізньому післяопераційному періоді (через 2 місяці)

Результати тесту примусового плавання з навантаженням наведено в табл. 3.1.

У групі контролю щури в ранньому та віддаленому періодах показали схожі результати. В середньому вони плавали до виснаження близько 6 хв, що характерно для нетренованих щурів.

Щури з ампутацією під час плавання намагалися використовувати куксу, але попри це їхні результати демонстрували статистично значуще ($p < 0,05$) зниження часу плавання до виснаження як у ранньому, так і у віддаленому періодах дослідження.

У ранньому періоді цей час знижувався в середньому в 1,6 разу в порівнянні з контролем та сягав у середньому 4 хв, у віддаленому періоді — знижувався у 1,8 разу при порівнянні з контролем та сягав у середньому 3,5 хв.

Таблиця 3.1

**Вплив ампутації задньої кінцівки на тривалість плавання
з навантаженням до виснаження в ранньому та віддаленому
постампутаційному періодах**

Термін дослідження, показник	Група тварин, кількість			
	Інтактний контроль		Ампутація	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Ранній період (3-4 дня після ампутації)	n=9		n=6	
Час плавання, с	377,4±32,3	382 [290; 402]	240,2±34,4	273 [212,25; 291,75] *
Віддалений період (2 місяці після ампутації)	n=11		n=6	
Час плавання, с	365,1±66,6	298 [201; 470]	204,7±64,8	123,5 [96,25; 319,5]*

Примітка. Статистично значущі відмінності порівняно з показником групи контролю: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ (за критерієм Манна-Вітні).

Отже, отримані результати свідчать, що після транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів відбувається прогресивне зниження фізичної витривалості тварин.

3.2. Динаміка маси тіла щурів із моделлю транстібіальної ампутації

Як видно з табл. 3.2, початкова маса тіла тварин з ампутацією була на 11% більшою, ніж у контрольної групи, однак різниця не досягала статистично значущого рівня.

Таблиця 3.2

**Динаміка маси тіла щурів з транстібіальною
ампутацією кінцівки**

Термін дослідження, показник	Група тварин, кількість			
	Інтактний контроль (n=9)		Ампутація (n=6)	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Початкова маса тіла, г	253,0±4,07	257,0 [242,0; 260,0]	281,7±15,83	290,0 [275,5; 307,5]
Маса тіла на другий місяць, г	263,0±7,91	260,0 [247,5; 268,5]	344,0±5,89 [#]	345,5 [335,5; 351,0] **
Збільшення маси тіла, г / % щодо вихідної	10,0 / 4,0		62,3 / 22,1	

Примітка. Статистично значущі відмінності порівняно з вихідним станом всередині групи: [#] — $p < 0,05$ (за парним критерієм Вілкоксона); порівняно із синхронним показником контролю: ** — $p < 0,01$ (за критерієм Манна-Вітні).

Через 2 місяці спостереження середня маса тіла контрольних тварин мала тенденцію до збільшення, зростаючи на 10 г, що становить 4% від загальної маси тіла та у середньому трималась на рівні 263 г.

Водночас у групі тварин з ампутацією відзначалося значно більш виразне збільшення маси тіла: приріст становив у середньому 62,3 г, унаслідок чого середня маса тіла досягала 344 г, що відповідає збільшенню на 22,1% від початкового значення. Їх маса тіла є достовірно більшою порівняно з початковим значенням ($p < 0,05$) та з контрольним показником при синхронному зважуванні на 31% ($p < 0,01$).

Медіана та міжквартильний діапазон підтверджують однорідність отриманих результатів у межах групи.

Таким чином, результати свідчать про суттєві відмінності у динаміці маси тіла між досліджуваними групами та вказують на тенденцію до значного її збільшення у тварин після ампутації нижньої кінцівки.

Висновки до розділу 3

1. Запропоновану модель транстібіальної ампутації щури переносили добре, післяопераційних ускладнень не спостерігалось. Через відсутність навантаження на кінцівку в постампутаційному періоді в тварин була помітна м'язова гіпотрофія та розвинулась згинальна контрактура кульшового суглоба.

2. Транстібіальна ампутація призводить до статистично значущого прогресивного зниження фізичної витривалості щурів як у ранньому, так і в віддаленому періодах спостереження.

3. У щурів після ампутації відзначається достовірне та значно більш виразне збільшення маси тіла порівняно з тваринами контрольної групи, що може бути пов'язано зі зменшенням рухливості та свідчить про суттєві зміни стану обміну речовин у постампутаційному періоді.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як уже зазначалося, у доступній науковій літературі систематизовані дані щодо динаміки маси тіла та змін фізичної витривалості у тварин після ампутації кінцівок обмежені. Важливість експериментальних досліджень з цього напрямку обумовлена необхідністю наукового обґрунтування та подальшого вдосконалення комплексів реабілітаційних заходів, спрямованих на поліпшення функціональних показників організму, усунення типових ускладнень ампутацій, пов'язаних із зайвою масою тіла, а також збільшення витривалості до фізичних навантажень, що є критично важливим для опанування пересування на протезі та покращення загального самопочуття. У такому контексті представлене дослідження можна розглядати як одне з перших, що комплексно оцінює взаємозв'язок між фізичною витривалістю та метаболічними змінами, інтегральним маркером яких є динаміка маси тіла в умовах модельної ампутації у тварин.

Крім того, застосування стандартизованої моделі ампутації у лабораторних тварин має важливе значення для подальших експериментальних досліджень. Така модель дозволяє відтворити основні морфологічні та функціональні зміни, що спостерігаються в постампутаційному періоді, та забезпечує можливість їх подальшої об'єктивної оцінки в контрольованих умовах. Стандартизована модель ампутації у тварин є важливою для вивчення стану кукси та морфологічних змін в її тканинах, зокрема для розробки засобів та апробації засобів, що покращують регенерацію шкіри та інших структур, або тих, що зменшують типову за ампутації м'язову гіпотрофію [48].

Всупереч очікуванням, отримані результати свідчать про те, що щури після ампутації зберігають здатність до відносно інтенсивної рухової активності. Це можна пояснити високою адаптаційною здатністю тварин та можливістю ефективно компенсувати втрату однієї кінцівки за рахунок

активного використання трьох інтактних, що є особливістю цієї моделі ампутації, яка виразно відрізняє її від ампутації у людини. Незважаючи на це, попри збереження загальної рухливості, результати тесту примусового плавання з навантаженням продемонстрували виразне, статистично значуще зниження фізичної витривалості у тварин після ампутації. Це вказує на те, що компенсаторні механізми, які забезпечують підтримання рухової активності, не повною мірою компенсують функціональні втрати, пов'язані зі зменшенням м'язової маси, перерозподілу навантаження на кінцівки та порушенням біомеханіки рухів за такого складного виду діяльності як плавання з навантаженням.

Зниження фізичної витривалості може бути пов'язане з комплексом факторів, серед яких важливу роль відіграють зменшення об'єму функціонально активної, працюючої м'язової тканини, розвиток гіпотрофії м'язів, зміни в біомеханіці рухів та підвищене навантаження на інтактні кінцівки. Як ми вже встановили, у віддаленому постампутаційному періоді до цих чинників додається значне збільшення маси тіла. Крім того, зміна сенсомоторної координації рухів, що призводить до збільшення енергетичних витрат при виконанні фізичних дій, а також відсутність симетрії рухів може призводити до більш швидкого настання втоми. Таким чином, навіть за умов збереження здатності до руху, функціональні резерви організму істотно знижуються, що в тесті плавання з навантаженням виявляється зменшенням часу до виснаження.

Таке використання трьох інтактних кінцівок для компенсації постампутаційних порушень і збереження рухової активності є характерною особливістю тваринної моделі ампутації, що суттєво відрізняє її від перебігу постампутаційного періоду в людини. У клінічних умовах за відсутності протезування, навіть при використанні допоміжних засобів пересування (милиць), рухова активність пацієнтів значно обмежується, що внаслідок періоду відновлення після ампутації та переважно лежачого образу життя може сприяти розвитку гіподинамії та подальшому зниженню фізичної

витривалості. Це, у свою чергу, створює передумови для формування метаболічних порушень, зокрема збільшення маси тіла внаслідок профіциту енергії.

Отримані результати узгоджуються з клінічними спостереженнями, згідно з якими після ампутації нижніх кінцівок у значної частини пацієнтів відзначається тенденція до збільшення маси тіла. За попередніми даними [49], збільшення маси тіла відбувається у 68,5% пацієнтів протягом першого року після ампутації на рівні стегна. У динаміці маси тіла виділяють 4 траєкторії змін; у 47,3% пацієнтів маса залишалася стабільною протягом першого року, а за 2,4 року зміни становили $4,2 \pm 11,5$ кг [50]. І хоча варіабельність у змінах маси тіла може бути значною, переважно простежується тенденція до її збільшення.

Встановлено, що приріст маси тіла у щурів з ампутацією є значно більш виразним порівняно з показником контрольної групи тварин, що свідчить про наявність істотних метаболічних зрушень у постампутаційному періоді. Зазначену тенденцію можна пояснити надлишком енергії, що виникає на тлі відносного зниження рівня фізичної активності та фізичної витривалості при збереженні звичайного режиму харчування. Умови утримання тварин після ампутації, що передбачають лише спонтанну рухову активність без додаткового фізичного навантаження або тренувань витривалості, у цьому випадку сприяють накопиченню надлишкової маси тіла. Це, у свою чергу, віддзеркалює загальні закономірності змін метаболізму після ампутації, що має важливе значення для розуміння механізмів розвитку супутніх порушень.

Зміни маси тіла та фізичній витривалості після ампутації тісно взаємопов'язані. Зниження фізичної витривалості обмежує рівень фізичної активності та сприяє зменшенню загальних енергетичних витрат. Це лише ускладнюється тим, що збільшення маси тіла додатково погіршує функціональний стан організму, збільшуючи навантаження на опорно-руховий апарат та заважаючи виконанню фізичних навантажень. Таким

чином, формується замкнене хибне коло патогенезу, в якому зниження фізичної витривалості та збільшення маси тіла взаємно посилюють одне одного [51].

Незважаючи на наявні біомеханічні та функціональні відмінності між руховою активністю людини й тварин, запропонована модель ампутації у щурів має значний науково-практичний потенціал. Вона може бути використана для комплексної оцінки змін фізичної витривалості, метаболічних процесів та регенерації тканин, а також для створення експериментального підґрунтя з метою обґрунтування оптимальних режимів фізичної реабілітації та їх фармакологічного супроводу.

Практичне значення дослідження полягає в тому, що воно слугує експериментальним обґрунтуванням розробки нових підходів до поліпшення функціонального стану кукси ампутованої кінцівки, підвищення ефективності підготовки до протезування та створення лікарських засобів, спрямованих на оптимізацію перебігу постампутаційного періоду.

Висновки до розділу 4

1. Аналіз комплексу отриманих результатів доводить, що після ампутації нижньої кінцівки відбувається достовірне зниження фізичної витривалості. Воно виявляється скороченням часу до повного виснаження у тесті плавання з навантаженням як у ранньому, так і у віддаленому періодах спостереження.

2. Зменшення фізичної витривалості обумовлене комплексом факторів, зокрема зниженням об'єму функціонально активної м'язової тканини, розвитком м'язової гіпотрофії, збільшенням навантаження на інтактні кінцівки та порушенням біомеханіки рухів.

3. У щурів з моделлю ампутації задньої кінцівки спостерігається достовірне збільшення маси тіла, що значно перевищує відповідні показники контрольної групи, свідчить про наявність метаболічних порушень та може бути пояснено профіцитом метаболічної енергії, що має

місце за умов стандартного харчування та обмеження рухової активності після ампутації.

4. Використання зазначеної моделі транстібіальної ампутації у щурів дозволяє розширити уявлення про механізми постампутаційних змін, стан фізичної витривалості та створює підґрунтя для розробки ефективних реабілітаційних і фармакологічних стратегій.

ВИСНОВКИ

У кваліфікаційній роботі експериментально досліджено фізичну витривалість та динаміку зміни маси тіла після транстібіальної ампутації нижньої третини гомілки задньої кінцівки у щурів.

1. На підставі аналізу останніх даних літератури показано, що для нашої країни ампутації кінцівок, особливо нижніх, останнім часом набули надзвичайної актуальності через військову агресію росії проти України. Це вимагає поліпшення реабілітації пацієнтів після ампутацій кінцівок.

2. Проаналізовано та узагальнено джерела літератури стосовно стану фізичної витривалості та динаміки маси тіла пацієнтів з ампутацією кінцівок. Також здійснено докладний огляд тваринних моделей ампутації кінцівок.

3. Досліджена модель транстібіальної ампутації на рівні нижньої третини задньої кінцівки у щурів, зміни фізичної витривалості та маси тіла у щурів у ранньому та віддаленому постампутаційному періоді.

4. Розроблено протокол експериментального дослідження, що передбачає використання моделі транстібіальної ампутації на рівні нижньої третини задньої кінцівки у щурів, оцінку змін фізичної витривалості у ранньому та віддаленому постампутаційному періодах за використання тесту плавання з навантаженням до виснаження, оцінку змін маси тіла та статистичний аналіз отриманих даних.

5. Встановлено, що після ампутації задньої кінцівки у щурів відбувається достовірне зниження фізичної витривалості як у ранньому (у 1,6 разу щодо інтактного контролю), так і у віддаленому (у 1,8 разу) періодах спостереження.

6. Виявлено, що протягом 2 місяців після ампутації задньої кінцівки в щурів достовірно збільшується маса тіла порівняно з як з вихідним значенням, так і з синхронним показником інтактних тварин, що утримуються та харчуються в аналогічних умовах.

7. Результати дослідження експериментально обґрунтовують доцільність використання зазначеної моделі транстібіальної ампутації у щурів для розробки оптимальних медичних технологій реабілітації пацієнтів з ампутацією кінцівок.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Життя після ампутації: труднощі, натхнення та нові можливості. *EnableMe Україна*. URL: <https://www.enableme.com.ua/ua/article/zitta-pisla-amputacii-trudnosi-nathnenna-ta-perspektivi-10426> (дата звернення: 21.03.2026).
2. Гордієнко І. О. Фізична терапія при ампутації нижніх кінцівок: кейс «ампутація нижньої кінцівки на рівні гомілки»: робота на здобуття кваліфікаційного ступеня магістра : спец. 227 – фізична терапія, ерготерапія / наук. кер. В. Л. Войтенко. Суми : Сум ДУ, 2024. 70 с.
3. Про затвердження стандарту реабілітаційної допомоги «Надання реабілітаційної допомоги при ампутації кінцівки у дорослих та дітей» : Наказ МОЗ України від 11 груд. 2025 р. № 1868. URL: <https://moz.gov.ua/uk/decrees/nakaz-moz-ukrayini-vid-11-12-2025-1868-pro-zatverdzhennya-standartu-reabilitacijnoyi-dopomogi-nadannya-reabilitacijnoyi-dopomogi-pri-amputaciyi-kincivki-u-doroslih-ta-ditej> (дата звернення: 20.03.2026).
4. Lower-limb amputation and body weight changes in men / A. J. Littman et al. *Journal of Rehabilitation Research and Development*. 2015. Vol. 52, № 2. P. 159–170. DOI: 10.1682/jrrd.2014.07.0166.
5. Body mass index patterns following dysvascular lower extremity amputation / D. E. Rosenberg et al. *Disability and Rehabilitation*. 2012. Vol. 35, № 15. P. 1269–1275. DOI: 10.3109/09638288.2012.726690.
6. Weight Change Trajectories After Incident Lower-Limb Amputation / E. D. Bouldin et al. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2016. Vol. 97, № 1. P. 1–7.e1. DOI: 10.1016/j.apmr.2015.09.017.
7. Rat Hindlimb Amputation Model Shows Analgesia and Sexually Dimorphic Cold Hypersensitivity with Immediate Targeted Muscle Reinnervation / J. L. Zepeda et al. *The Journal of Pain*. 2025. P. 105460. DOI: 10.1016/j.jpain.2025.105460.

8. Development of a Phantom Limb Pain Model in Rats: Behavioral and Histochemical Evaluation / S. Jergova et al. *Frontiers in Pain Research*. 2021. Vol. 2. DOI: 10.3389/fpain.2021.675232.
9. Нагорна О., Дехтерук В. Фізична терапія хворих після ампутації нижніх кінцівок. *Реабілітаційні та фізкультурно-рекреаційні аспекти розвитку людини*. 2020. №. 6. С. 23–27. DOI: 10.5281/zenodo.4033240.
10. Murray C. D., Havlin H., Molyneaux V. Considering the psychological experience of amputation and rehabilitation for military veterans: a systematic review and metasynthesis of qualitative research. *Disability and Rehabilitation*. 2023. P. 1–20. DOI: 10.1080/09638288.2023.2182915.
11. У комітеті з питань соціальної політики та захисту прав ветеранів обговорили стан протезування в Україні. 25 груд. 2023 р. URL: https://www.rada.gov.ua/news/news_kom/245199.html (дата звернення: 21.03.2026).
12. Дослідження галузі протезування кінцівок в Україні. Аналіз та звіт. *Protez Hub*. 2023. URL: <https://protezhub.com/blog/doslidzhennya-haluzi-protezuвання-kintsivok-v-ukrayini-analiz-ta-zvit-protez-hub> (дата звернення: 21.03.2026).
13. Ільницький С., Пітин М., Гузій О. Сучасні напрями фізичної терапії осіб з транстібіальною ампутацією. *Фізична активність, здоров'я і спорт*. 2025. № 2. С. 35–42. DOI: 10.32782/2221-1217-2025-2-04.
14. Досвід протезування в Україні. Результати опитування. *Protez Hub*. URL: <https://protezhub.com/blog/dosvid-protezuвання-v-ukrayini-rezultaty-opytuvannya> (дата звернення: 21.03.2026).
15. Якість протезування – це якість підготовки фахівця. *Protez Hub*. URL: <https://protezhub.com/blog/yakist-protezuвання-tse-yakist-pidhotovky-fakhivtsya> (дата звернення: 23.03.2026).
16. Effects of upper limb loss or absence and prosthesis use on postural control of standing balance / M. J. Major et al. *American journal of physical medicine rehabilitation*. 2020. Vol. 99, № 5. P. 366–371. DOI: 10.1097/phm.0000000000001339.

17. Особливості фізичної терапії осіб після ампутації нижньої кінцівки / Н. М. Кононенко та ін. *Сучасні тенденції спрямовані на збереження здоров'я людини* : зб. ст. V наук.-практ. internet-конф. з міжнар участю, присвяч. пам'яті проф. О. В. Пешкової. м. Харків, 18-19 квіт. 2024 р. Харків, 2024. С. 42–46.
18. Clinical mobility metrics estimate and characterize physical activity following lower-limb amputation / M. Seth et al. *BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation*. 2022. Vol. 14, № 1. DOI: 10.1186/s13102-022-00518-x.
19. Peak oxygen consumption in older adults with a lower limb amputation / D. Wezenberg et al. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2012. Vol. 93, № 11. P. 1924–1929. DOI: 10.1016/j.apmr.2012.05.020.
20. The impact of body mass index on rehabilitation outcomes after lower limb amputation / A. Dubin et al. *PM&R*. 2025. Vol. 17(5). P. 539–547. DOI: 10.1002/pmrj.13292.
21. Chang S., Yan J., Mu L. Effects of exercise on physical performance and quality of life in individuals with limb amputation: a systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2025. Vol. 26, № 1. P. 955. DOI: 10.1186/s12891-025-09128-3.
22. Temporal spatial and metabolic measures of walking in highly functional individuals with lower limb amputations / H. L. Jarvis et al. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. 2017. Vol. 98, № 7. P. 1389–1399. DOI: 10.1016/j.apmr.2016.09.134.
23. Energy Expenditure and Walking Speed in Lower Limb Amputees: a Cross Sectional Study / T. Vllasolli et al. *Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja*. 2014. Vol. 16, № 4. P. 419–426. DOI: 10.5604/15093492.1119619.
24. Impact of postoperative weight loss on anticoagulant dosing after major lower limb amputation / A. Al-Kassar et al. *The annals of the royal college of surgeons of england*. 2026. DOI: 10.1308/rcsann.2025.0120.
25. The association between body mass index and skin problems in persons with a lower limb amputation: an observational study / T. S. Mollee et al. *BMC*

- Musculoskeletal Disorders*. 2021. Vol. 22, № 1. DOI: 10.1186/s12891-021-04646-2.
26. Lower-limb amputation and body weight changes in men / A. J. Littman et al. *Journal of rehabilitation research and development*. 2015. Vol. 52, № 2. P. 159–170. DOI: 10.1682/jrrd.2014.07.0166.
 27. The relationship between lower extremity amputation and body mass index / M. Al Yafi et al. *Vascular*. 2023. Vol. 31(5). P. 922–930. DOI: 10.1177/17085381221087824.
 28. Weight Change Trajectories After Incident Lower-Limb Amputation / E. D. Bouldin et al. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 2016. Vol. 97, № 1. P. 1–7. DOI: 10.1016/j.apmr.2015.09.017.
 29. Wong C. K., Wong R. J. Standard and Amputation-Adjusted Body Mass Index Measures. *American Journal of Physical Medicine Rehabilitation*. 2017. Vol. 96, № 12. P. 912–915. DOI: 10.1097/phm.0000000000000796.
 30. DNA degradation in nuclei of muscle cells followed by ischemic injury in a rabbit amputation model / Q. Wang et al. *Microsurgery*. 2006. Vol. 26, № 5. P. 391–395. DOI: 10.1002/micr.20257.
 31. Novel model for end-neuroma formation in the amputated rabbit forelimb / P. Kim et al. *Journal of brachial plexus and peripheral nerve injury*. 2010. Vol. 5, № 1. P. e21–e28. DOI: 10.1186/1749-7221-5-6.
 32. Kinetic, kinematic, magnetic resonance and owner evaluation of dogs before and after the amputation of a hind limb / V. Galindo-Zamora et al. *BMC Vet Res*. 2016. Vol. 12. DOI: 10.1186/s12917-016-0644-5.
 33. Outcome for client-owned domestic rabbits undergoing limb amputation: 34 cases (2000–2009) / N. C. Northrup et al. *Journal of the american veterinary medical association*. 2014. Vol. 244, № 8. P. 950–955. DOI: 10.2460/javma.244.8.950.
 34. Gamsjaeger L., Chigerwe M. Indications for and outcomes of limb amputation in goats and sheep. *Journal of the american veterinary medical association*. 2018. Vol. 252, № 7. P. 860–863. DOI: 10.2460/javma.252.7.860.

- 35.Gliedmaßenamputation bei 2 kleinen Wiederkäuern / J. Schoiswohl et al. Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / *Nutztiere*. 2020. Vol. 48, № 3. P. 191–197. DOI: 10.1055/a-1162-0247.
- 36.Extremity amniotic band syndrome in fetal lamb. I: an experimental model of limb amputation / F. Soldado et al. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006. Vol. 195, № 6. P. 1607–1610. DOI: 10.1016/j.ajog.2006.03.056.
- 37.A novel animal model of hindlimb amputation to evaluate chronic pain / I. Berberoglu et al. *Plastic and reconstructive surgery - global open*. 2025. Vol. 13, Suppl. 1. P. 3–4. DOI: 10.1097/01.gox.0001111984.46090.87.
- 38.Cryopreservation and replantation of amputated rat hind limbs / Z. Wang et al. *European Journal of Medical Research*. 2014. Vol. 19, № 1. P. 28. DOI: 10.1186/2047-783x-19-28.
- 39.Tripawd tuesday: toby t's livin' the good life now! *Tripawds*. URL: <https://tripawds.com/2024/08/27/tripawd-tuesday-toby> (Date of access: 22.03.2026).
- 40.Time to get your tripawd strong, it's canine fitness month! *Tripawds*. URL: <https://tripawds.com/2026/04/01/tripawd-canine-fitness-month/> (Date of access: 22.03.2026).
- 41.Dynamic and postural changes in forelimb amputee dogs: a pilot study / O. Rodriguez et al. *Animals*. 2024. Vol. 14, № 13. P. 1960. DOI: 10.3390/ani14131960.
- 42.The bone alterations in hind limb amputation rats in vivo / H. Luan et al. *Medicine in novel technology and devices*. 2020. Vol. 8. P. 100046. DOI: 10.1016/j.medntd.2020.100046.
- 43.If your tripawd is overweight, here's what you can do. *Tripawds*. URL: <https://tripawds.com/2016/10/12/tripawd-overweight> (Date of access: 22.03.2026).
- 44.Breakthrough orthopedic care helping tripawds live their best life, with dr. Dujo. *Tripawds*. 2025 URL: <https://tripawds.com/2025/11/25/ttr132-dr-dujo> (Date of access: 22.03.2026).

45. The protection of animals used for scientific purposes Text with EEA relevance
Electronic resource: Directive of 22.09.2010 № 2010/63/EU: as of 26 June 2019.
URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>. (Date of access: 20.03.2026).
46. Festing M. F, Altman D. G. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. *ILAR J.* 2002. Vol. 43(4). P. 244–58. DOI: 10.1093/ilar.43.4.244.
47. Armario A. The forced swim test: historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. *Neuroscience biobehavioral reviews.* 2021. Vol. 128. P. 74–86. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.06.014.
48. A concise review of common animal models for the study of limb regeneration / Z. Farah et al. *Organogenesis.* 2016. Vol. 12, № 3. P. 109–118. DOI: 10.1080/15476278.2016.1205775.
49. Lower-limb amputation and body weight changes in men / A. J. Littman et al. *Journal of rehabilitation research and development.* 2015. Vol. 52, № 2. P. 159–170. DOI: 10.1682/JRRD.2014.07.0166.
50. Weight change trajectories after incident lower-limb amputation / E. D. Bouldin et al. *Archives of physical medicine and rehabilitation.* 2016. Vol. 97, № 1. P. 1–7. e1. DOI: 10.1016/j.apmr.2015.09.017.
51. Schmalz T., Blumentritt S., Jarasch R. Energy expenditure and biomechanical characteristics of lower limb amputee gait: *Gait posture.* 2002. Vol. 16, № 3. P. 255–263. DOI: 10.1016/s0966-6362(02)00008-5.

ДОДАТКИ

Кафедра фармакології та клінічної фармації

1. **Модель ампутації нижньої третини гомілки щура: характеристика стану центральної нервової системи, фізичної витривалості та маси тіла в динаміці**
Доповідач: Гуторка Микита, Кирилов Дмитро, Мекленбурцев Олександр
Науковий керівник: Штриголь С.Ю., зав. кафедри, д.м.н., професор
2. **Порівняльний аналіз українського та європейського протоколів фармакотерапії генітального ендометріозу**
Доповідач: Яворська Валерія
Науковий керівник: Жаботинська Н.В., к.мед.н., доцент
3. **Вплив екстракту культури тканин унгернії Віктора на поведінкові реакції, м'язовий тонус та больову чутливість**
Доповідач: Коцар Ольга
Науковий керівник: Штриголь С.Ю., зав. кафедри, д.м.н., професор; Степанова С.І. к.фарм.н., доцент
4. **Обізнаність співробітників та відвідувачів аптек щодо умов раціонального застосування препаратів для лікування метеоризму**
Доповідач: Закревська Дар'я
Науковий керівник: Белік Г.В., к.фарм.н., доцент
5. **Перша долікарська допомога при травмах кісток та суглобів**
Доповідач: Налізько Анастасія
Науковий керівник: Верховодова Ю.В., к.мед.н., асистент
6. **Дослідження ефективності застосування PNF-терапії у фізичній терапії при корінцевому синдромі на рівнях L3-L4**
Доповідач: Ступак Анастасія
Науковий керівник: Савохіна М.В., к.мед.н., доцент
7. **Порівняльний аналіз підходів до фармакотерапії бронхіальної астми алергічної та неалергічної етіології**
Доповідач: Дмитро Кирилов, Анастасія Рижук
Науковий керівник: Жаботинська Н.В., к.мед.н., доцент
8. **Сучасні підходи до лікування мігрені**
Доповідач: Рижук Анастасія
Науковий керівник: Белік Г.В., к.фарм.н., доцент
9. **Сучасні підходи до лікування акне та догляд за проблемною шкірою в підлітковому віці**
Доповідач: Пономаренко Юлія



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет



СЕРТИФІКАТ

Цим засвідчується, що
Мекленбурцев О. Д.

Науковий керівник:
Штриголь С. Ю.

брав(ла) участь у роботі V Всеукраїнської
науково-практичної конференції
з міжнародною участю

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

10-11 грудня 2024 р.
м. Харків,
Україна

RAT TRANSTIBIAL HINDLIMB AMPUTATION MODEL: CHARACTERISTIC OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM FUNCTIONAL STATE, PHYSICAL ENDURANCE AND BODY MASS IN DYNAMIC

Mykyta Hutorka, Dmytro Kyrylov, Oleksandr Meklenburtsev, Sergii Shtrygol', Andrii Taran, Olena Ruban

Limb loss is a relevant medical and social problem. In a full-scale war environment, amputation became a frequent occasion, which requires adequate rehabilitation measures in preparation for prosthetic procedures. The post-traumatic period's peculiarities, specifically the central nervous system (CNS) functional characteristics and physical endurance, must be known. Experimental studies on animal models play an important role; however, there is no information available about such studies.

The aim. To determine the influence of hindlimb loss on the state of the central nervous system in terms of behavioural responses, physical endurance, and body mass dynamics of rats in the early and late post-amputation period. To characterise the indicated amputation model for further use in experimental studies.

Materials and methods. The experiment was conducted on white male rats. Transtibial amputation at the level of the lower third of the hind limb was performed in aseptic conditions in 6 animals under thiopental-sodium anaesthesia (40 mg/kg intraperitoneally). The state of CNS and physical endurance was determined during the early (3–4 days after amputation) and long-term (2 months after surgery) periods. Locomotor and exploratory activity, emotional responses and vegetative support were determined in the Open field test, and anxiety was determined in the Light-dark box test. The coordination of animal movement was measured in the rotarod test, and the depression level was measured in the Porsolt swim test. The physical endurance of the rats was studied using the forced swimming test with a load (5 % of the body mass at the base of the tail) as a control were used rats with comparable body mass. STATISTICA 12.0 was used to process the results.

Results. In the early post-amputation period, exploratory behaviour and emotional results of rats in the Open field test were significantly suppressed, while in the long-term period of significance, only the reduction of emotional responses. In the Light-dark box test, the latency to enter the darkened compartment of the chamber increases reliably in both periods of observation (especially in the early period). Collectively, these results indicate changes in the reaction of animals with amputation of the hindlimb to stressful experimental conditions, in particular, an anxiety reduction, which requires further research. In the rotarod test, a significant deterioration of movement coordination of rats with amputation was found in both observation periods. After amputation, the manifestations of depressive behaviour in the Porsolt swimming test progressed, and the physical endurance in the forced swimming test with a load was significantly reduced. The body mass of rats with hindlimb amputation was significantly increased after 2 months (22 % average increase vs 4 % average increase in control, $p < 0.01$). Results are important for experimental-based optimal rehabilitation programs after lower limb amputation.

Conclusion. An easy-to-perform model of transtibial amputation at the level of the lower third of the hindlimb in rats is proposed. It is concluded that after amputation, exploratory behaviour and emotional responses were suppressed, which indicates changes in the responses of animals with amputation of the hindlimb to stressful experimental conditions, in particular, an anxiety reduction, which differentiates this animal amputation model from human amputation. After amputation, the depressed behaviour of rats progresses, movement coordination steadily worsens, and physical endurance is significantly reduced. The body mass of rats with hindlimb amputation increases considerably

Keywords: transtibial hindlimb amputation, behavioural responses, physical endurance, body mass, rats, experiment

How to cite:

Hutorka, M., Kyrylov, D., Meklenburtsev, O., Shtrygol', S., Taran, A., Ruban, O. (2024). Rat transtibial hindlimb amputation model: characteristic of the central nervous system functional state, physical endurance and body mass in dynamic. ScienceRise: Pharmaceutical Science, 6 (52), 27–36. <http://doi.org/10.15587/2519-4852.2024.318008>

© The Author(s) 2024

This is an open access article under the Creative Commons CC BY license

1. Introduction

Limb amputation leaves a lasting impact on the quality of life, physical endurance and psychological state of humans. Lower limb amputation is the most common type (up to 85 % of all amputation cases). It is estimated that quantity of humans with amputated limbs will in-

crease more than two-fold before 2050 [1]. The main reasons for amputation may vary depending on social, economic, political and regional conditions and the level of medical care. Most reasons for amputation are vascular diseases, diabetes mellitus and limb injuries [2], among which, due to war, particularly due to Russian aggression

against Ukraine, gunshot wounds and mine-explosive traumas have gained especial significance. There is no accurate statistic related to the number of soldiers who suffered lower limb wounds. According to the Health Care Department of Kyiv data, there were 15,000 people with amputated limbs in the first half of 2023 [3].

To properly plan the rehabilitation process and prosthetics, it is necessary to know the peculiarities of the post-traumatic period, specifically the functional characteristics of the central nervous system (CNS) and physical endurance. It is known that patients with traumatic amputation quite regularly have depression and post-traumatic stress disorder, characterised by fear and anxiety. To correct this condition, psychotherapy is offered in combination with antidepressants of various groups: tricyclic, serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors, selective serotonin or noradrenaline reuptake inhibitors, and MAO inhibitors [4]. There is no information about physical endurance. To substantiate the choice of certain rehabilitation methods and schemes of optimal pharmacological correction of the specified functions in the post-amputation period, it is appropriate to use not only clinical but also experimental studies. However, no information about such studies was found in the special literature.

In clinical studies of recent years, the most discussed topic is the prevention of post-amputation thromboembolism using fractionated heparin (enoxaparin) [4, 5]. Much attention is paid to the pharmacotherapy of post-amputation pain. For short-term use for this purpose, an opioid agonist, morphine, is offered, as well as antagonists of NMDA receptors – ketamine, memantine, and dextromethorphan. The effectiveness of calcium channel blocker nifedipine, beta blocker propranolol, α_2 -receptor agonist clonidine, TNF- α inhibitor etanercept is less grounded; the possibility of reducing the central activation of neurons with the help of salmon calcitonin is considered. Amitriptyline and gabapentin are recommended for the treatment of phantom pain [6]. Recently, the use of regeneration stimulators – ReGeneraTing Agents (RGTA) – in the post-amputation state has been discussed [4]. These agents are polysaccharides designed to replace degraded heparan sulfate in damaged tissues. They are resistant to degradation, able to bind to the structural and signalling proteins of the extracellular matrix and protect them, and able to stimulate regeneration [7].

Also, an important consequence of losing a limb is a change in body mass. Mostly, people with a lost limb are overweight, but it is believed that this does not affect the results of functional tests after rehabilitation and generally does not interfere with the rehabilitation process in a hospital [8]. However, body mass loss has been reported in the period from 4 weeks to 6 months after amputation. However, within a year, the weight is usually restored to the preoperative level or increases [9].

To prepare for prosthetics, it is necessary to substantiate the effectiveness of certain rehabilitation measures in the field of both the physical and psychological state of the victims. Unfortunately, modern methodological approaches, in particular ex vivo studies on cell cultures of neurons, osteoblasts, chondrocytes, myocytes,

etc., do not allow determining the impact at the level of the whole organism, in which neurohumoral regulatory and counterregulatory mechanisms simultaneously function, and the central nervous system interacts with the musculoskeletal system, which has undergone significant biomechanical and energy changes after amputation. It is important to understand how the victim's organism will function in the conditions of the above-mentioned changes in body weight, which are not always easy to correct. Even for simple movement at the stage of preparation for amputation and after prosthetics, patients spend a lot of energy, which requires optimisation of physical endurance, and neuropsychological diagnostics and treatment remain an important direction of their rehabilitation [10]. Therefore, research at the whole-body level is needed.

To successfully solve the problem of rehabilitation after the loss of a limb, it is advisable to use an optimal experimental animal model of amputation. This allows to standardise the studied parameters and assess psychophysiological and biomechanical capacity, which requires determining the state of the central nervous system, physical endurance, etc.

In experimental medicine, amputation models are used in various animal species (dogs, sheep, etc.). Without dwelling on these models, it should be noted that for a long time, models of amputation of the fore or hind limbs in rats (as the most accessible species of laboratory animals) have also been used for this purpose. In particular, there is currently a renaissance of research on the electrical stimulation effect on regeneration after limb amputation in rats [11], which was initiated over 50 years ago by R.O.Becker. Recently, the state of ischemic-reperfusion injury of the limbs [12], loss of bone tissue, changes in the microstructure of trabecular bone and muscle atrophy using computed tomography and transmission electron microscopy [13], the efficiency of muscle reinnervation [14], etc. have been studied in models of amputation of the hind limbs of these animals. No studies have been found on the functional state of the CNS, physical endurance, and changes in body weight in rats with amputation models. However, given the uniqueness of humans as the only biological species that moves on two limbs and the interspecific biomechanical, biochemical, and psychophysiological differences, it is important to find out to what extent the limb amputation model in rats corresponds to or differs from the condition of humans with a lost limb. Animal models of amputation are also important to use to assess the condition of the skin, muscles, and bone of the stump, the course of regeneration processes, adaptation of the stump to the prosthesis receiving socket or to osteointegration, protection of the stump skin and bone from ascending infections, etc., and the condition of the spine, which is significantly affected by amputation due to impaired biomechanics of movement and load redistribution [10].

Thus, the idea of limb amputation models in experimental animals, particularly rats, has existed for a long time and has recently gained new development. However, in important terms of neuropsychological studies and assessment of physical endurance and body

weight in dynamics, animal models of limb amputation have not been used.

The aim. To determine the influence of limb loss on the state of the central nervous system in terms of behavioural responses, physical endurance, and body mass dynamics of rats in the early and late post-amputation period. To characterise the indicated amputation model for further use in experimental studies.

2. Research design (methodology)

At the first stage, it was necessary to choose a model of limb amputation in rats that would preserve the mobility of animals and make it possible to determine behavioural responses in standard psychopharmacological tests and endurance to physical exertion. Amputation of the distal segment of the hindlimb, in particular the leg, better meets this requirement. Therefore, amputation of the lower third of the hindlimb was chosen. In the second stage, to determine the functional state of the animals' central nervous system in dynamics, the early (3–4 days after amputation) and chronic (2 months after surgery) periods were chosen. This would make it possible to choose the optimal targets of the rehabilitation influence at different times after the loss of a limb.

To characterise the state of the central nervous system, a complex of standard research methods was chosen: the Open field test (motor and oriented research activity, emotionality), the Light-dark box test (anxiety), the Porsolt swim test (depressive behaviour), the rotarod test (coordination of movements, muscle tone), swimming with load (physical endurance). To track gradual changes in body mass, was reasonable to weigh rats the day before and at different times after amputation.

Stages of research:

1. Analysis of publications on limb amputation, including animal models.
2. Selection of the optimal model of rat amputation.
3. Surgical intervention – transtibial amputation of the lower third of the hindlimb.
4. Detection of behavioural responses and physical endurance in the early (3–4 days) and late (2 months) post-amputation periods.
5. Processing and analysis of the obtained results.
6. Identification of promising directions for further research.

3. Material and methods

The study was conducted at the Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy of the National Pharmaceutical University (NUPh). The protocol of the experiments was approved by the bioethics commission of the NUPh (protocol No 13 dated 13.03.2024) and meets the requirements of the Helsinki Declaration on the humane treatment of animals (2000) and the Directive of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes (2010) [15]. Experiments were performed on adult white random-bred male rats aged 7–8 months, weighing 230–310 g (determined using electronic scales with an accuracy of 1 g). The animals were kept on a standard vivarium diet with

free access to water, constant humidity, and a temperature regime of +22–23 °C.

Transtibial amputation at the level of the lower third of the hindlimb was performed in aseptic conditions in 6 animals under thiopental-sodium anaesthesia (40 mg/kg intraperitoneally). Miniature (ophthalmological) surgical instruments were used, and an electrocoagulator was used for hemostasis. The nerves were cut under slight tension to minimise the risks of neuropathic pain. After cutting, the edge of the bone was carefully smoothed. A conical stump was formed. A myofasciocutaneous flap was formed to close the wound, muscles (myoplasty technique was used), and skin was sutured. Ceftriaxone (250 mg/kg) was administered intraperitoneally to the rats at the end of the operation to prevent infectious contamination. After surgery, rats were placed in individual standard plastic boxes with free access to pelleted feed and drinking water. A limited number of amputated rats (6) was taken for bioethical reasons.

The number of control animals was larger to reduce the dispersion of the results. In the early post-amputation period (3–4 days after surgery), 9 rats of similar age and initial body mass were used. They were injected with an anaesthetic agent and ceftriaxone in the same doses without surgical intervention to ensure the same pharmacological effects. In the chronic period (after 2 months), 11 control rats were studied. They were kept in similar conditions and fed in the same way as animals with amputations.

Research on the state of the central nervous system and physical endurance in each period was conducted over two days in such a sequence that the animals were not exhausted, and the previous test did not interfere with the application of the next one. In the Open field test, a brightly light platform measuring 75×75 cm with 30 cm sides was used, divided into 25 squares of 15×15 cm with 2 cm diameter holes at their corners. Locomotor (the number of crossed squares) and exploratory activity (the number of rearings and inspected holes – exploratory nose-pokes, and their sum), emotional responses (the number of acts of grooming), and their vegetative support were determined separately and together (the number of faecal boli, urinations), the sum of all activities in 3 minutes was counted [16, 17]. Later, the level of anxiety was investigated in the Light-dark box test [18]. The device is a rectangular box measuring 60×30×30 cm divided by a wall into two equal compartments of 30×30 cm. One of the compartments is closed with a removable lid. The other one is open; above it is a source of bright light used to create conditions of moderate stress for the animals. There is a hole in the wall between the light and dark boxes. Rats were placed in the brightly lit part of the device with their head away from the opening, and the time to enter the dark box was measured. Additionally, behavioural patterns such as rearings, grooming, defecation, and urination while on the illuminated platform, were measured. The observation time was 3 minutes. Next, the coordination of animal movements was measured in the rotarod test (rod rotation speed set at 10 rpm) [19]. In this test, rats had 3 tries, which allowed them to adapt to the difficult testing

conditions, especially in the absence of a limb; the best result was accounted for. At the end of the first experimental day, the level of depression of the animals was determined in the Porsolt swim test [20]. The animals were placed in a pool with a diameter of 50 cm, a depth of 60 cm and a height of borders above water of 10 cm (escape is impossible) with water at room temperature (21–22 °C). A decrease in the latent time of the first episode of immobilisation (absence of any swimming movements), an increase in the number of episodes and the time of immobility of animals in water were considered markers of depressive behaviour [20].

On the second day, the physical endurance of the rats was studied by the forced swimming test with a load (5 % of the body weight at the base of the tail). In this test, a load of 10 % of the body weight is used, but given the specifics of this experiment – the reduced capabilities of animals with limb amputation – the weight of the load was reduced to 5 %. The pool described above was used. Swimming time was measured until the moment of exhaustion when the rats dived underwater and could not float back to the surface for at least 10 seconds [21]. A stopwatch was used. The experiments were recorded.

STATISTICA v12.0 and Excel programs were used for statistical processing of quantitative data. The statistical significance of intergroup differences was determined by the non-parametric Mann-Whitney test since the distribution test by the Shapiro-Wilk test showed that it was not normal. The paired Wilcoxon test was used to evaluate the body mass dynamic within the group. Changes with $p < 0.05$ were considered statistically significant. The results are presented as $M \pm m$ and Me [Q25; Q75]. For accounting results in an alternative form (presence/absence of a feature), the results were presented in %, and Fisher's angular transformation was used.

4. Results

All animals tolerated the surgical intervention well and quickly recovered from anaesthesia (Fig. 1). Early and late complications were not observed. Right after coming out of anaesthesia, the animals began to move, and on the second day after the amputation of the hindlimb, all rats freely moved in their cages. The stump in all rats in the early post-amputation period was in satisfactory condition while primary healing of the surgical wound was taking place. The wool cover of the stump was restored (Fig. 2, a). At the same time, muscle hypotrophy and flexural contracture of the hip joint gradually developed, and already a few days after the operation, the stump in some animals appeared to be shortened and significantly pulled up to the pelvis. Over time, these changes intensified (Fig. 2, b).

Behavioural patterns in the Open field test. On the 3rd day, in the Open field test, a declining trend in motor activity was observed (number of crossed squares), averaging a 33 % decrease (Table 1). Orientation and explorational responses have changed: the number of examined holes has decreased by 4 times ($p < 0.05$), the number of rearings has decreased by 3.2 times, and the sum of orientation and explorational responses has decreased by 3.3

times ($p < 0.05$). The number of acts of grooming (a behavioural marker of emotional responses) also decreased statistically significantly by 6.8 times ($p < 0.01$), and vegetative manifestations of emotions (number of boli, urinations) did not undergo significant changes. The sum of indicators of all subtests of the Open field test tends to decrease in the early post-amputation period by an average of 40.9 %.



Fig. 1. Rat after transtibial amputation of the hindlimb. Getting out of anaesthesia



a



b

Fig. 2. Appearance of rats 2 months after amputation at the level of the lower third of the right hindlimb: a – stump with minor; b – with significant muscle atrophy

Table 1
Effect of transtibial amputation of the hindlimb on the behavioural responses of rats in the Open field test in the early and long-term periods

Period of research, indicator		Group, number of animals			
		Control		Amputation	
		<i>M±m</i>	<i>Me [Q25; Q75]</i>	<i>M±m</i>	<i>Me [Q25; Q75]</i>
Early period (3–4 days after amputation)		<i>n</i> =9		<i>n</i> =6	
Locomotor activity (squares crossed)		24.36±7.88	19 [7.75; 31.75]	16.33±7.38	8 [4; 30]
Exploratory activity	Rearings	6.88±2.10	6.5 [3.25; 8.5]	2.17±0.98	1.5 [0.25; 3.5]
	Exploratory nose-pokes	2.00±0.53	2 [1; 2.25]	0.50±0.50	0 [0; 0]*
	The sum	8.88±2.29	9 [4.25; 10.5]	2.67±1.26	1.5 [0.25; 5.0]*
Emotional responses and their autonomic support	Groomings	2.25±0.75	2 [1; 2.25]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]**
	Fecal boli	1.50±0.50	1 [0.75; 2.25]	2.33±0.56	2 [1.25; 3.5]
	Urinations	0.50±0.19	0.5 [0; 1]	0.50±0.19	0.5 [0; 1]
	The sum	4.25±0.90	4.5 [2.5; 5.5]	3.17±0.54	3 [2.0; 4.0]
The sum of all activities		37.49±9.35	31.5 [20.25; 43.75]	22.17±8.81	12 [8.5; 38.75]
Long-term period (2 months after amputation)		<i>n</i> =11		<i>n</i> =6	
Locomotor activity (squares crossed)		27.36±6.78	15 [10; 42.5]	21.63±7.58	20 [6.25; 30]
Exploratory activity	Rearings	4.36±1.06	4 [2; 6]	2.00±0.73	1.5 [1; 2.75]
	Exploratory nose-pokes	2.27±0.67	2 [1; 3]	1.67±1.09	1 [0.25; 1]
	The sum	6.64±1.5	6 [2.5; 8]	3.67±1.52	2.5 [1.25; 5.25]
Emotional responses and their autonomic support	Groomings	1.54±0.20	1 [1; 2]	0.17±0.17	0 [0; 0]**
	Fecal boli	1.18±0.63	1 [0; 1]	1.00±0.63	0.5 [0; 1]
	Urinations	0.73±0.21	1 [0.5; 1]	0.67±0.21	0.5 [0; 1]
	The sum	3.45±0.45	3 [2.5; 4.5]	1.84±0.87	1 [1; 1.75]*
The sum of all activities		37.45±7.97	28 [16.5; 55]	27.17±8.99	22 [9.25; 43]

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (Mann-Whitney criterion).

In the long-term post-amputation period (2 months), the locomotor activity of animals with amputation also tended to be lower (by 21 %) compared to control. The decrease in the number of orientation and exploratory responses was also preserved, but now it was expressed weaker and had a tendentious character in all subtests.

Suppression of emotional responses also continued: the number of acts of grooming decreased by 9 times ($p < 0.01$) compared to the control, and the decrease in the sum of markers of emotionality by 1.9 times became reliable ($p < 0.05$). The sum of all activities of the Open field test remained tendentially reduced compared to the control by an average of 27.4 %.

The level of anxiety in the Light-dark box test. As can be seen from the Table 2, all animals of the control group quickly (within half a minute) entered the dark compartment of the box. This is due to the inherent rodents' instinctive fear of brightly lit spaces, which has an anxiogenic effect on rats. On the way to the dark box, they mostly did not examine the lightbox (there were no stances) and, for the most part, did not show emotional responses (grooming, defecation, urination). On the contrary, in rats with amputation in the early period, a significant (on average 7.1 times) increase in the latent period of entering the dark box was observed ($p < 0.05$), which may mean a decrease in anxiety level. During this time, they all moved around the lighted platform, examined it, made stances, managed to reveal a small number of emotional responses (no more than intact rats revealed in seven times shorter time), and even

looked into the opening to the dark compartment, but did not hurry to hide there. Only 33.3 % of rats with amputation versus 100 % in control ($p < 0.01$) entered the dark box within 3 minutes of observation. At the same time, there were no changes in the number of stances and emotional responses during the stay in the lightbox compared to the control.

Similar, though less pronounced, differences took place in the long-term period. In animals with amputation, the latent period of entering the dark box remained increased compared to the control (by 4.2 times, $p < 0.05$), while only 83.3 % of them entered within 3 minutes against 100 % in the control ($p < 0.05$). The number of stances and displays of emotionality during the stay in the light box, as in the early post-amputation period, remained unchanged.

Coordination of movements in the rotarod test. Rats with amputation both in the early and in the remote period were kept on the rotating rod much worse than the control animals (Table 3). In both terms of the study, they all fell from the rod within 30 seconds, while in the control, at this time, the least coordinated animals were just starting to fall. A significant number of rats with amputation did not last even 5 seconds on the rod, while most control rats lasted 1 minute. The average time it took rats with amputation to fall was statistically significantly ($p < 0.01$) inferior to the control value by 14 times on the 3rd day and by 16 times after 2 months. Therefore, the coordination of movements after the amputation of the hindlimb was persistently disturbed.

Table 2
Effect of transtibial amputation of the hindlimb on the behavioural responses of rats in the Light-dark box test in the early and long-term periods

Period of research, indicator		Group, number of animals			
		Control		Amputation	
		<i>M</i> ± <i>m</i>	Me [Q25; Q75]	<i>M</i> ± <i>m</i>	Me [Q25; Q75]
Early period (3–4 days after amputation)		<i>n</i> =8		<i>n</i> =6	
Latent period before entering, seconds		17.50±6.21	10 [5; 22.5]	124.00±35.46	180 [59.25; 180]*
Exploratory activity	Rearings	0.13±0.13	0 [0; 0]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]
Emotional responses and their autonomic support	Groomings	0±0	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
	Fecal boli	0±0	0 [0; 0]	0.50±0.34	0 [0; 0.75]
	Urinations	0±0	0 [0; 0]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]
Number of rats that entered in 3 minutes, %		100		33.3 ^^	
Long-term period (2 months after amputation)		<i>n</i> =11		<i>n</i> =6	
Latent period before entering, seconds		11.00±4.65	5 [3.5; 11.0]	46.00±27.12	24 [11.5; 31.25]*
Exploratory activity	Rearings	0.09±0.09	0 [0; 0]	0.33±0.21	0 [0; 0.75]
Emotional responses and their autonomic support	Groomings	0.09±0.09	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
	Fecal boli	0±0	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
	Urinations	0.09±0.09	0 [0; 0]	0.17±0.17	0 [0; 0]
Number of rats that entered in 3 minutes, %		100		83.3 ^	

Note: Statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$ (Mann-Whitney test); ^ – $p < 0.05$, ^^ – $p < 0.01$ (Fisher's test).

Table 3
Effects of transtibial hindlimb amputation on the time it took rats to fall in the rotarod test in the early and long-term periods

Period of research, indicator		Group, number of animals			
		Control		Amputation	
		<i>M</i> ± <i>m</i>	Me [Q25; Q75]	<i>M</i> ± <i>m</i>	Me [Q25; Q75]
Early period (3–4 days after amputation)		<i>n</i> =8		<i>n</i> =6	
Time to fall, seconds		69.88±24.26	37.5 [29; 82.5]	5.00±0.86	4.5 [3.25; 6.5]**
The number of rats that fell from the rod, %	<5 sec	0		50 ^^	
	<30 sec	25		50 ^	
	<1 min	50		0 ^^	
	<5 min	25		0 ^	
Long-term period (2 months after amputation)		<i>n</i> =11		<i>n</i> =6	
Time to fall, seconds		97.27±18.70	67 [50; 160]	6.17±1.14	6.5 [3.75; 7.75]**
The number of rats that fell from the rod, %	<5 sec	0		33.3 ^^	
	<30 sec	9.1		66.7 ^^	
	<1 min	18.2		0 ^	
	<5 min	72.7		0 ^^	

Note: Statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (according to the Mann-Whitney criterion); ^ – $p < 0.05$, ^^ – $p < 0.01$ (according to Fisher's angular transformation).

Depression behaviour in Porsolt swimming test. During swimming, rats used a stump as much as possible. In the early post-amputation period, the latent period of immobility decreased significantly (on average, 1.7 times compared to the control, $p < 0.05$) in rats with amputation (Table 4). The number and total duration of episodes of immobility tended to increase, and the average duration of such an episode was almost the same. In the remote period, an even more pronounced decrease in the latent period of immobility was observed (an average of 6 times compared to the control, $p < 0.01$), and there was a statistically significant increase in the number ($p < 0.01$) and duration of immobility episodes ($p < 0.05$). These results indicate an increase in depressive behaviour in rats with hindlimb amputation over time.

Physical endurance in the weighted swimming test. During the test, the rats tried to use the stump to swim. A

statistically significant ($p < 0.05$) decrease in swimming time until exhaustion was observed in rats with amputation of the hindlimb in both terms of the study (Table 5). In the early period, this time was reduced by an average of 1.6 times, and in the late period – by 1.8 times. These results indicate that after transtibial hindlimb amputation in rats, there is a progressive decline in physical endurance.

Dynamics of body mass. As can be seen from Table 6, the initial body mass of animals with amputation was 11 % greater than that of controls, but the difference did not reach a statistically significant level. After 2 months, the average weight of control animals tended to increase by 10 g (4 %), and the weight of rats with amputation increased by 62.3 g (22.1 %), which is significantly higher compared to their initial weight ($p < 0.05$) and to the control indicator for synchronous weighing by 31 % ($p < 0.01$). Therefore, after amputation, there is a significant increase in body mass.

Table 4
Effect of transtibial amputation of the hindlimb on the behavioural responses of rats in the Porsolt swimming test in the early and long-term periods

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control		Amputation	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Early period (3–4 days after amputation)	n=8		n=6	
Latent period of immobility, sec	86.13±17.49	85.5 [67.25; 93]	52.00±9.11	53.5 [49.75; 63.25]*
Total time of immobility, sec	17.63±6.90	10 [5.75; 19.5]	26.00±15.79	8 [2.5; 30.75]
Number of immobility episodes	11.38±3.88	8.5 [5.75; 11]	13.50±6.94	6.5 [2.25; 17.5]
The average duration of immobility episode, sec	1.41±0.14	1.40 [1.08; 1.61]	1.43±0.20	1.27 [1.05; 1.72]
Long-term period (2 months after amputation)	n=11		n=6	
Latent period of immobility, sec	186.73±32.22	160 [112.5; 246]	31.33±8.99	22 [20; 30]**
Total time of immobility, sec	13.18±4.41	5 [2.5; 22.5]	55.83±19.57	44 [28; 64.5]*
Number of immobility episodes	4.18±1.19	3 [1; 7]	28.00±7.25	27.5 [15.25; 34.5]**
The average duration of immobility episode, sec	2.30±0.40	2.5 [1.83; 3.22]	1.80±0.19	1.79 [1.57; 1.99]

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (according to the Mann-Whitney test).

Table 5
The effect of transtibial amputation of the hindlimb on the duration of swimming with a load until exhaustion in early and remote periods

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control		Amputation	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Early period (3–4 days after amputation)	n=9		n=6	
Swimming time, sec	377.4±32.3	382 [290; 402]	240.2±34.4	273 [212.25; 291.75] *
Long-term period (2 months after amputation)	n=11		n=6	
Swimming time, sec	365.1±66.6	298 [201; 470]	204.7±64.8	123.5 [96.25; 319.5]*

Note: statistically significant differences compared to the control: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ (according to the Mann-Whitney test)

Table 6
Dynamics of body mass in rats with transtibial amputation of the hindlimb

Period of research, indicator	Group, number of animals			
	Control (n=9)		Amputation (n=6)	
	M±m	Me [Q25; Q75]	M±m	Me [Q25; Q75]
Initial body mass, g	253.0±4.07	257.0 [242.0; 260.0]	281.7±15.83	290.0 [275.5; 307.5]
Body mass after 2 months, g	263.0±7.91	260.0 [247.5; 268.5]	344.0±5.89*	345.5 [335.5; 351.0] **
Increase in body mass, g, %	10.0/4.0		62.3/22.1	

Note: statistically significant differences with the initial state within the group: # – $p < 0.05$ (even Wilcoxon criterion); with a synchronous control indicator: ** – $p < 0.01$ (Mann-Whitney criterion).

5. Discussion

As already mentioned, there is no information in the literature about changes in the state of the central nervous system and physical endurance of animals with limb amputation. The importance of such research is explained by the need to improve the complexity of rehabilitation measures and their experimental justification. Therefore, this study can be considered one of the first scientific explorations in this direction. On the other hand, a standardised animal model of amputation is important for studies of the condition of the stump, particularly for the development of means that improve the regeneration of skin and other structures and reduce muscle hypotrophy.

When discussing the results of behavioural tests, it should be noted that for an adequate assessment, it is important to analyse them comprehensively. The number of crossed squares in the Open field test is considered a marker of the level of motor activity and animal anxiety [22]. Contrary to expectations, the results show that amputated

rats retain the ability to move quite intensively. In the absence of a prosthesis of the lost limb, locomotor activity only tended to decrease by an average of a quarter in the first days and by 21 % after 2 months. Considering these features, the absence of significant changes compared to the control allows us to state that the locomotor component of the stress reaction of rats does not change significantly after amputation. This is explained by the ability of animals to compensate for the absence of one limb by active use of three intact ones for movement, and this distinguishes the animal model of amputation from the course of the post-amputation period in humans, in which locomotor activity in the absence of a prosthesis and the use of crutches sharply decreases. The Open field test allows us to identify the features of various behavioural patterns under stress conditions, particularly the ability to orient and explore. It is believed that an increase in the number of rearing when exposed to intense lighting is a manifestation of anxiety in rodents [23]. Despite the absence of part of one supporting limb, the rats per-

formed vertical rearings (mostly around the sides of the box), although their number tended to be less than in controls. This may indicate some anxiety reduction, although it is problematic to state this unequivocally given the certain biomechanical difficulties of standing on the hindlimbs in the partial absence of one of them.

It is more difficult to unequivocally interpret the changes in another component of the exploratory activity – the examination of the holes in the arena's floor (nose-pokes). This behaviour is based on the unconditional reflex of rodents to look into burrows and explore terrain [24]. This indicator also decreased in rats with amputation, although, unlike vertical rearings, this type of activity does not require the participation of the hindlimbs. In the early post-amputation period, the reduction in the inspection of the holes is statistically significant; in the long term, it is a trend. Although there is an opinion that anxiety can suppress the desire of rodents to explore a new environment, and less anxious animals, on the contrary, can explore it more intensively [25], in comparison with changes in other subtests of the Open field test (grooming) and indicators of the Light-dark box test, a significant reduction in the number of examined holes is logical to consider in the context of reducing anxiety. Also, these results prove that the absence of a limb causes changes in the functioning of the central nervous system at the level of unconditioned reflexes that are not directly related to the locomotor system. This phenomenon may be of fundamental importance and requires further study.

Grooming (washing, scratching) in rodents is considered an adaptive behaviour - under stress, a protective reaction to distraction [26], and intensive grooming (frequent washing) is considered a sign of concern and anxiety. A steady decrease in the number of acts of grooming, which we observed in both periods after amputation, especially in the later period, can be interpreted as a marker of a decrease in emotional responses, particularly anxiety. At the same time, the autonomic support of emotional responses (the number of defecation and urination) did not change compared to the control.

Relatively low anxiety in rats after amputation is also indicated by the results of the Light-dark box test, which is specific for this type of emotional disturbance. It is known that the time spent in the light part of the box depends on the level of anxiety of the animals: the higher the anxiety, the more animals tend to hide in the dark, closed space [18]. After amputation, rats spent significantly more time in the brightly lit compartment of the device than control rats, and a significant proportion of these animals did not enter the dark box during the entire 3 minutes of observation. This behaviour cannot be explained by the difficulty of movement, which prevents the rats from demonstrating a typical reaction – to quickly hide in the dark from the anxiogenic effect of bright light: their locomotor activity, as evidenced by the previous Open field test, is little different from that of control animals. An increase in the time spent in the illuminated compartment of the box indicates a change in the response to stressful conditions in rats with amputation. They can be interpreted as a reduction of anxiety, which confirms the findings of the Open field test.

So, concerning changes in the emotional state of the central nervous system after amputation of the hindlimb in rats, in two adjacent tests, Open field and Light-dark box, changes in response to stressful conditions, namely a decrease in anxiety, were first discovered. This distinguishes the emotional state of rats and humans after losing a limb. An increase in anxiety is more typical for humans [5, 26]. Anxiety in a person with a lower limb amputee is largely associated with impaired social functioning, self-care ability, significant increase in energy expenditure for movement, which causes constant fatigue, stigmatisation, etc [1]. After losing one of them, animals that use 4 limbs for locomotion obviously have much fewer physiological limitations than humans and better compensate for impaired locomotor function. However, these differences do not allow us to fully explain the change in response to stressful conditions revealed in our study, which can be considered as a decrease in anxiety. The nature of this phenomenon needs further clarification.

The observed increase in body mass, which was found in rats, is also observed in a significant number of people after amputation of the lower limb. According to data [27], it occurs in 68.5 % of patients for the first year after amputation of lower limbs at hip level. In the increase in body mass, 4 trajectories of changes can be distinguished; 47.3 % of patients had a stable weight in the first year, and in 2.4 years, changes in body mass amounted to 4.2 ± 11.5 kg [28]. The increase in the body weight of animals after amputation can be explained by a surplus of energy against the background of a decrease in the mobility of animals that were in conditions of normal spontaneous physical activity without physical training. These rats, as demonstrated by the results of the Open field test, retained the ability to move freely, but their locomotor activity decreased.

Although animals and humans move differently biomechanically, the proposed model of amputation in rats can be used to assess the state of metabolism and regeneration processes, create an experimental foundation for the optimal regime of physical rehabilitation and its pharmacological support, improve the functional state of the stump, and develop drugs for the preparation of prosthetics.

Practical relevance. The results of this study experimentally substantiate the directions of targeted correction of disorders of the functional state of the CNS, body weight, and physical endurance after lower limb amputation. This may contribute to the successful solution of the problem of rehabilitation after limb loss.

Study limitation: The study was performed on a limited number of animals (6) with amputation. A limited range of indicators of the functional state of the central nervous system was clarified. The increase in body mass is characterised phenomenologically without elucidating the peculiarities of animal metabolism.

Further research prospects. Increased number of markers of the functional state of the central nervous system, in particular, the study of the effect of amputation on the cognitive functions of animals. Study of possible sexual dimorphism of the central nervous system and body weight dynamics after amputation. Identification of metabolic features of the post-amputation period,

as well as the functional state of the stump and its skin. Evaluation of the effect of rehabilitation measures.

6. Conclusion

1. An easy-to-perform model of transtibial amputation at the level of the lower third of the hindlimb in rats is proposed.

2. It was found that in the early post-amputation period (3–4 days after surgery) in rats, exploratory behaviour (primarily examination of hole, or exploratory nose-pokes) and emotional responses (grooming) in the Open field test are statistically significantly suppressed in the remote period (2 months) of significance only the reduction of emotional responses. In the Light-dark box test, the latency to enter the dark compartment increases reliably in both periods of observation (especially in the early period). Collectively, these results indicate changes in the reaction of animals with amputation of the hindlimb to stressful experimental conditions, in particular, an anxiety reduction, which requires further research.

3. In the rotarod test, a significant deterioration of movement coordination was found in rats with amputation both in the early and in the long term.

4. After amputation of the hindlimb in rats, the manifestations of depressive behaviour in the Porsolt swimming test progressed, and the physical endurance in the forced swimming test with a load was significantly reduced.

5. The body mass of rats after amputation of the hindlimb under conditions of usual physical activity significantly increases.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest in relation to this research, whether financial, personal, authorship or otherwise, that could affect the research and its results presented in this article.

Funding

The research was carried out within the framework of the topic "Development of soft drugs to improve the functional state of the stump during prosthetics" of the list of scientific studies of the Ministry of Health of Ukraine, carried out at the expense of the state budget of Ukraine No. 0124U001991 (Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 82 of 16.01.2024).

Data availability

Data will be made available at a reasonable request.

Use of artificial intelligence

The authors confirm that they did not use artificial intelligence technologies when creating the current work.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to all defenders of Ukraine who made this research possible.

References

- Rudenko, Y., Assonov, D. (2023). Psychological Consequences of Limb Amputation: Literature Review. *Psychosomatic Medicine and General Practice*, 8 (3). <https://doi.org/10.26766/pmmp.v8i3.443>
- McDonald, C. L., Westcott-McCoy, S., Weaver, M. R., Haagsma, J., Kartin, D. (2020). Global prevalence of traumatic non-fatal limb amputation. *Prosthetics & Orthotics International*, 45 (2), 105–114. <https://doi.org/10.1177/0309364620972258>
- Bochkova, N., Petrenko, N., Satanovska, C. (2024). Peculiarities of physical rehabilitation of military personnel with lower limb amputation. *Scientific Journal of National Pedagogical Dragomanov University. Series 15. Scientific and Pedagogical Problems of Physical Culture (Physical Culture and Sports)*, 3K (176), 127–131. [https://doi.org/10.31392/udu-nc.series15.2024.3k\(176\).27](https://doi.org/10.31392/udu-nc.series15.2024.3k(176).27)
- Prylinska, M., Husejko, J., Kwiatkowska, K., Wycech, A., Kujaciński, M., Rymarska, O. et al. (2019). Care for an elderly person after lower limb amputation. *Journal of Education, Health and Sport*, 9 (8), 886–894. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3370924>
- Kostka, A., Durliej-Kot, S., Chabowski, M., Janczak, D. (2017). Opieka pielęgniarska nad pacjentem po amputacji kończyny dolnej na podstawie międzynarodowej klasyfikacji praktyki pielęgniarskiej (ICNP®). *Surgical & Vascular Nursing/Pielęgniarstwo Chirurgiczne i Angiologiczne*, 11 (3), 84–93. Available at <https://www.termedia.pl/Opieka-pielęgniarska-nad-pacjentem-po-amputacji-konczyny-dolnej-na-podstawie-Miedzynarodowej-Klasyfikacji-Praktyki-Pielęgniarskiej-ICNP-,50,31234,0,0.html>
- Modest, J. M., Raducha, J. E., Testa, E. J., Ebersson, C. P. (2020). Management of post-amputation pain. *Rhode Island medical journal*, 103 (4), 19–22.
- Barritault, D., Gilbert-Sirieix, M., Rice, K. L., Siñeriz, F., Papy-Garcia, D., Baudouin, C. et al. (2016). RGTA® or ReGeneraTing Agents mimic heparan sulfate in regenerative medicine: from concept to curing patients. *Glycoconjugate Journal*, 34 (3), 325–338. <https://doi.org/10.1007/s10719-016-9744-5>
- Vivas, L. L. Y., Pauley, T., Dilkas, S., Devlin, M. (2016). Does size matter? Examining the effect of obesity on inpatient amputation rehabilitation outcomes. *Disability and Rehabilitation*, 39 (1), 36–42. <https://doi.org/10.3109/09638288.2016.1140831>
- Rosenberg, D. E., Turner, A. P., Littman, A. J., Williams, R. M., Norvell, D. C., Hakimi, K. M., Czerniecki, J. M. (2012). Body mass index patterns following dysvascular lower extremity amputation. *Disability and Rehabilitation*, 35 (15), 1269–1275. <https://doi.org/10.3109/09638288.2012.726690>
- Sitenko, O. (2023). Development of the rehabilitation system in Ukraine. organizational aspects. *Orthopaedics Traumatology and Prosthetics*, 2, 77–83. <https://doi.org/10.15674/0030-59872023277-83>
- Leppik, L. P., Froemel, D., Slavici, A., Ovadia, Z. N., Hudak, L., Henrich, D. et al. (2015). Effects of electrical stimulation on rat limb regeneration, a new look at an old model. *Scientific Reports*, 5 (1). <https://doi.org/10.1038/srep18353>
- Irie, H., Kato, T., Ikebe, K., Tsuchida, T., Oniki, Y., Takagi, K. (2004). Antioxidant effect of MCI-186, a new Free-Radical scavenger, on ischemia-reperfusion injury in a rat hindlimb amputation model. *Journal of Surgical Research*, 120 (2), 312–319. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2003.12.004>
- Luan, H., Huirugu, Mo, Z., Ren, W., Guo, H., Chu, Z., Fan, Y. (2020). The bone alterations in hind limb amputation rats in vivo. *Medicine in Novel Technology and Devices*, 8, 100046. <https://doi.org/10.1016/j.medntd.2020.100046>

14. Zepeda, J., Mraz, G., Roth, E., Hoben, G. (2023). Rat Hindlimb Amputation Model to Assess Nerve Transfers for Pain Relief. *Plastic and Reconstructive Surgery – Global Open*, 11 (10S), 108–108. <https://doi.org/10.1097/01.gox.0000992448.01175.c5>
15. Directive of 22.09.2010 No. 2010/63/EU (2010). The protection of animals used for scientific purposes Text with EEA relevance. Available at: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>
16. Hock, F. J. (Ed.). (2016). *Drug discovery and evaluation: Pharmacological assays*. Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-05392-9>
17. Koval, A., Shtrygol, S. (2023). 1-(5-Acetyl-3-methyl-6-phenyl-5h-[1, 2, 4] triazolo [3, 4-b][1, 3, 4] thiadiazin-7-yl)-ethanone: dose-dependence of analgesic effect, lack of opioidergic mechanism of action, effect on behavioral reactions and acute toxicity. *Acta Medica Leopoliensia*, 29 (3–4), 192–203. <https://doi.org/10.25040/aml2023.3-4.192>
18. Bourin, M., Hascoët, M. (2003). The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*, 463 (1–3), 55–65. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)01274-3](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01274-3)
19. Bonni, A. V., Elezgarai, I., Gremel, C. M., Viray, K., Bamford, N. S., Palmiter, R. D. et al. (2021). Control of exploration, motor coordination and amphetamine sensitization by cannabinoid CB1 receptors expressed in medium spiny neurons. *European Journal of Neuroscience*, 54 (3), 4934–4952. <https://doi.org/10.1111/ejn.15381>
20. Slattery, D. A., Cryan, J. F. (2012). Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nature Protocols*, 7 (6), 1009–1014. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.044>
21. Armario, A. (2021). The forced swim test: Historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 128, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.06.014>
22. Harro, J. (2018). Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural Brain Research*, 352, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.016>
23. Kunitoshi, H., Ichisaka, S., Yamamoto, M., Ikubo, N., Matsuda, S., Futura, E. et al. (2017). Early deprivation increases high-leaving behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neuroscience Research*, 123, 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2017.04.012>
24. Mukvych, V. V., Lishenko, V. P., Lukashov, S. M. (2017). Age-related changes of open field behavioral reactions of male and female rats. *Bulletin of Zaporizhzhia National University. Biologichni nauky*, 2, 75–84. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vzm_bio_2017_2_12
25. Rosso, M., Würz, R., Loretan, A. V., Sutter, N. A., Pereira da Cunha, C. T., Jaric, I. et al. (2022). Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 143, 104928. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104928>
26. Berge, M. F. D. C., Prebianchi, H. B. (2018). Emotional aspects present in the lives of amputees: a literature review. *Psicologia: teoria e prática*, 20 (1), 47–60. <https://doi.org/10.5935/1980-6906/psicologia.v20n1p47-60>
27. Littman, A. J., Thompson, M. L., Arterburn, D. E., Bouldin, E., Haselkorn, J. K., Sangeorzan, B. J., Boyko, E. J. (2015). Lower-limb amputation and body weight changes in men. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 52 (2), 159–170. <https://doi.org/10.1682/jrrd.2014.07.0166>
28. Bouldin, E. D., Thompson, M. L., Boyko, E. J., Morgenroth, D. C., Littman, A. J. (2016). Weight Change Trajectories After Incident Lower-Limb Amputation. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 97 (1), 1–7.e1. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2015.09.017>

Received 29.10.2024

Received in revised form 28.11.2024

Accepted 12.12.2024

Published 18.12.2024

Mykyta Hutorka, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Dmytro Kyrylov, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Oleksandr Meklenburtsev, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Sergii Shtrygol', Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Andrii Taran, PhD, Associate Professor, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

Olena Ruban, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of Department, Department of Industrial Technology of Medicines and Cosmetics, National University of Pharmacy, Hryhoriia Skovorody str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002

*Corresponding author: Sergii Shtrygol', e-mail: shtrygol@ukr.net

Національний фармацевтичний університетФакультет фармацевтичнийКафедра фармакології та клінічної фармаціїСтупінь вищої освіти магістрСпеціальність 226 Фармація, промислова фармаціяОсвітньо-професійна програма «Фармація»**ЗАТВЕРДЖУЮ****Завідувач кафедри
фармакології та клінічної
фармації Сергій ШТРИГОЛЬ**«01» вересня 2026 року**ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ****Олександра МЕКЛЕНБУРЦЕВА**

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Фізична витривалість і динаміка маси тіла щурів з ампутацією задньої кінцівки»,
керівник кваліфікаційної роботи: Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор,
затверджений наказом НФаУ від «06» жовтня 2025 року № 266
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи травень 2026 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: сучасні дані щодо змін фізичної витривалості та маси тіла у щурів після ампутації нижньої кінцівки; наукові публікації з питань постампутаційних адаптацій організму, порушень рухової активності та метаболічних змін; літературні джерела щодо експериментальних моделей транстібіальної ампутації у щурів і методів оцінки фізичної витривалості; дані щодо динаміки маси тіла, функціонального стану тварин та підходів до корекції постампутаційних порушень.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): проаналізувати літературні дані щодо змін фізичної витривалості та маси тіла у щурів після ампутації нижньої кінцівки; вивчити природу фізіологічних змін; охарактеризувати експериментальну модель ампутації; опанувати та застосувати методи оцінки фізичної витривалості та динаміки маси тіла; провести експеримент, виконати статистичний аналіз результатів; узагальнити дані та сформулювати висновки.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць – 2, рисунків – 6

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРИЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	02.10.2025 р.	02.10.2025 р.
2	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	19.11.2025 р.	19.11.2025 р.
3	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	23.12.2025 р.	23.12.2025 р.
4	Сергій ШТРИГОЛЬ, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації, д.мед.н., професор	12.02.2025 р.	12.02.2025 р.

7. Дата видачі завдання «01» вересня 2026 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Проведення огляду та вивчення літератури за темою кваліфікаційної роботи	Вересень 2025 р.– лютий 2026 р.	виконано
2	Опанування методів дослідження функціонального стану ЦНС	Жовтень 2025 р.	виконано
3	Виконання експериментів	Жовтень-листопад 2025 р.	виконано
4	Статистична обробка отриманих результатів	Жовтень-листопад 2025 р.	виконано
5	Написання аналізу та узагальнення кваліфікаційної роботи	Грудень 2025 р. – лютий 2026 р.	виконано
6	Заключне редагування кваліфікаційної роботи	Березень-квітень 2026 р.	виконано

Здобувач вищої освіти

Олександр МЕКЛЕНБУРЦЕВ

Керівник кваліфікаційної роботи

Сергій ШТРИГОЛЬ

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 266
По Національному фармацевтичному університету
від 06 жовтня 2025 року

Затвердити теми кваліфікаційних робіт 5 курсу (10 семестр) 2025-2026 н. р., група Фм21(4,10д), освітньо-професійна програма «Фармація», спеціальність «226 Фармація, промислова фармація», галузь знань «22 Охорона здоров'я», рівень вищої освіти другий (магістерський), денна форма здобуття освіти, термін навчання 4 роки 10 місяців

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Кафедра фармакології та клінічної фармації					
1.	Мекленбурцев Олександр Дмитрович	Фізична витривалість і динаміка маси тіла щурів з ампутацією нижньої кінцівки.	Physical endurance and body weight dynamics of rats with lower limb amputation.	проф. Штриголь С.Ю.	проф. Міщенко О.Я.

ПІДСТАВА: подання декана фармацевтичного факультету доцента Олександра ГОНЧАРОВА



Вірно: пров. фахівець деканату

Алла СЕРДЮК

ВИСНОВОК
експертної комісії про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти
«01» травня 2026 р. № 333727869

Проаналізувавши кваліфікаційну роботу здобувача вищої освіти МЕКЛЕНБУРЦЕВА Олександра, групи ФМ21(4,10д)-01, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, освітньої програми «Фармація» очної (денної) форми здобуття освіти на тему: «Фізична витривалість і динаміка маси тіла шурів з ампутацією нижньої кінцівки / Physical endurance and body weight dynamics of rats with lower limb amputation», експертна комісія дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

Заступник голови Комісії,
заступник директора інституту
в складі ЗВО ННІПФ,
доцент



Олена НОВОСЕЛ

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

Олександра МЕКЛЕНБУРЦЕВА

**на тему: «Фізична витривалість і динаміка маси тіла щурів з ампутацією
задньої кінцівки»**

Актуальність теми. Роботу присвячено актуальній темі, що пояснюється поширеністю ампутацій кінцівок та необхідністю вдосконалення підходів до реабілітації. Відомості щодо стану фізичної витривалості та змін маси тіла за ампутації кінцівки суперечливі. З'ясування цього питання є важливим завданням, що розв'язує Олександр МЕКЛЕНБУРЦЕВ.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Поглиблено уявлення про патогенез системних постампутаційних порушень, що необхідно для пошуку підходів до їх фармакологічної корекції та реабілітації постраждалих.

Оцінка роботи. Робота Олександра МЕКЛЕНБУРЦЕВА є закінченим дослідженням на актуальну тему з використанням адекватних методів експериментальної хірургії та фізіології центральної нервової системи, наведено огляд сучасного стану знань з теми дослідження. Магістрант самостійно виконав роботу, виявив високий рівень загальної та спеціальної підготовки, відповідальність. За темою дослідження має публікацію в наукометричному виданні Q3. Робота заслуговує на позитивну оцінку.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота Олександра МЕКЛЕНБУРЦЕВА відповідає чинним вимогам до робіт ступеня вищої освіти «магістр» і рекомендується до захисту.

Науковий керівник _____ проф. Сергій ШТРИГОЛЬ
«14» травня 2026 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр спеціальності
226 Фармація, промислова фармація

Олександра МЕКЛЕНБУРЦЕВА

на тему: «Фізична витривалість і динаміка маси тіла
щурів з ампутацією задньої кінцівки»

Актуальність теми. Тема кваліфікаційної роботи є актуальною. Дослідження фізичної витривалості та динаміки маси тіла у щурів після ампутації задньої кінцівки має важливе значення у зв'язку з необхідністю поглиблення уявлень про механізми постампутаційної адаптації організму та пошуку ефективних підходів до реабілітації.

Теоретичний рівень роботи. У роботі проаналізовано значний обсяг сучасної наукової літератури. Теоретична частина викладена логічно та структуровано, відображає сучасні уявлення щодо змін фізичної витривалості та динаміки маси тіла після ампутації кінцівки. Експериментальна частина дослідження добре узгоджена з аналізом теоретичного матеріалу. Наведено аргументацію наукових положень, коректні посилання на літературні джерела. Матеріал подано на належному науковому рівні, наукові положення узгоджується з метою і завданнями дослідження.

Пропозиції автора за темою дослідження. Автором запропоновано використання експериментальної моделі транстібіальної ампутації задньої кінцівки у щурів для оцінки змін фізичної витривалості та динаміки маси тіла у ранньому та віддаленому постампутаційному періоді.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Практична цінність роботи полягає у комплексній оцінці фізичної витривалості та змін маси тіла у щурів після ампутації задньої кінцівки із застосуванням адекватних сучасних методів дослідження. Висновки є обґрунтованими, відповідають поставленій меті та отриманим результатам.

Недоліки роботи. У роботі трапляються поодинокі стилістичні та мовні неточності, що не впливають на загальне позитивне враження від виконаної роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. Робота здобувача Микита ГУТОРКА виконана на належному науковому та методичному рівні, відповідає вимогам до робіт за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація», заслуговує на позитивну оцінку та може бути рекомендована до захисту з присвоєнням автору кваліфікації «Магістр фармації».

Рецензент _____ проф. Оксана МІЩЕНКО
«15» травня 2026 р.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 19
засідання кафедри фармакології та клінічної фармації

18 травня 2026 р.

м. Харків

Голова: завідувач кафедри, доктор мед. наук, професор Штриголь С. Ю.

Секретар: кандидат фарм. наук, доцент Ветрова К. В.

ПРИСУТНІ: зав. каф., проф. Штриголь С.Ю., проф. Деримедвідь Л.В., доц. Белік Г.В., доц. Ветрова К.В., доц. Жаботинська Н.В., доц. Матвійчук А.В., доц. Отрішко І.А., доц. Очкур О.В., доц. Савохіна М.В., доц. Степанова С. І., доц. Таран А.В., ас. Верховодова Ю.В., ас. Підгайна В.В. та здобувачі вищої освіти.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

1. Розгляд кваліфікаційних робіт здобувачів вищої освіти для подання робіт до Екзаменаційної комісії.

СЛУХАЛИ:

1. Здобувача вищої освіти Мекленбурцева Олександра Дмитровича зі звітом про проведену наукову діяльність за темою кваліфікаційної роботи: «Фізична витривалість і динаміка маси тіла щурів з ампутацією нижньої кінцівки».

УХВАЛИЛИ:

1. Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Мекленбурцев Олександр Дмитрович допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Голова

Завідувач кафедри, проф.

Сергій ШТРИГОЛЬ

Секретар, доц.

Катерина ВЕТРОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Олександр МЕКЛЕНБУРЦЕВ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація Освітньо-професійною програмою Фармація на тему: «Фізична витривалість і динаміка маси тіла шурів з ампутацією задньої кінцівки»
Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.
Декан факультету _____ / Олександр ГОНЧАРОВ /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Олександр МЕКЛЕНБУРЦЕВ в повному обсязі виконав кваліфікаційну роботу. За актуальністю, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень кваліфікаційна робота відповідає вимогам і допускається до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи _____ Сергій ШТРИГОЛЬ

«14» травня 2026 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Олександр МЕКЛЕНБУРЦЕВ допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувач кафедри фармакології та клінічної фармації _____ Сергій ШТРИГОЛЬ

«18» травня 2026 року

Кваліфікаційну роботу захищено

в Екзаменаційній комісії

«10» червня 2026 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

_____ / Володимир ЯКОВЕНКО /