

Висновок

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Ткачука Павла Вячеславовича на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» «Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)»

Науковий керівник: заступник директора з наукової роботи, завідувач відділу мікрохірургії та реконструктивно-відновлювальної хірургії верхньої кінцівки ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор Страфун Сергій Семенович.

Рецензенти:

1. Завідувач відділу важкої поліструктурної травми ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», д. мед. н. Долгополов Олексій Вікторович.

2. Завідувач науково-практичного центру регенеративної ортопедії та інноваційних біомедичних технологій ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», кандидат медичних наук Голюк Євген Леонтійович.

Ким і коли затверджена тема дисертації.

Тема дисертаційної роботи «Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)» затверджена на засіданні Вченої ради ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» від 10 грудня 2019 (протокол №18).

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертаційного

дослідження.

Комісія з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» зробила висновок, що дослідження Ткачука Павла Вячеславовича «Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)» не містять підвищеного ризику для суб'єктів дослідження та виконано з урахуванням існуючих біоетичних норм та наукових стандартів щодо проведення клінічних досліджень із залученням пацієнтів. Згідно з експертним висновком Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», заперечень щодо подання матеріалів дисертації до захисту немає (протокол засідання № 5 від 11.11.2018 року), (протокол засідання №3 від 05.09.2023 року).

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

Актуальність дослідження патогенезу остеоартрозу та розробка нових способів лікування захворювання пояснюється значним поширенням і високою соціальною значимістю даної патології. Остеоартроз є хронічним захворюванням суглобу різної етіології, що спричиняє дистрофічні зміни суглобового хряща та субхондральної кістки та різко погіршує якість життя і стає причиною інвалідності. На сьогодні розроблено різні консервативні (анальгетики, НПЗП) та хірургічні методи лікування остеоартрозу, проте їх ефективність залишається незадовільною. Експериментальні дослідження сприяють дослідженню характеру та наслідків розвитку дегенеративних змін у тканинах суглобів та дозволяють оцінити ефективність запропонованих підходів лікування. Перспективним напрямком регенеративної медицини в травматології та ортопедії є застосування аутологічних клітинних технологій – збагаченої тромбоцитами плазми (ЗТП), мезенхімальних клітин з червоного кісткового мозку та жирової тканини.

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»: “Розробити та експериментально дослідити регенеративні технології при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів” 2022-2024 рр. (№ держреєстрації 0122U000200).

2. Формування наукового завдання, нове розв’язання якого отримано в дисертації.

У дисертації наведено нове вирішення актуального наукового завдання ортопедії і травматології, а саме досліджено вплив клітинних аспіратів різних тканин на розвиток структурних порушень у колінному суглобі та біохімічних змін у крові на тлі розвитку експериментального деформуючого остеоартрозу. Розширене уявлення сучасної концепції патогенезу остеоартрозу. Створено наукові передумови для застосування клітинних технологій у хворих з метою терапії остеоартрозу, доведено біологічну безпечність застосування аутологічних клітинних суспензій кісткового мозку та жирової тканини при введенні у колінний суглоб, наукові здобутки слугуватимуть підґрунтям для удосконалення та розробки нових підходів у лікуванні пацієнтів із хронічними запальними і дегенеративними захворюваннями колінного суглобу.

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

Наукова робота є особистою працею автора. Автор самостійно визначив напрямок дослідження, провів пошук і аналіз літератури, сформував мету роботи, провів експериментальні дослідження на лабораторних тваринах, статистичну обробку отриманих результатів, їх аналіз та узагальнення, сформулював висновки і практичні рекомендації роботи. Автором запропоновано оригінальну експериментальну модель післятравматичного деформуючого остеоартрозу.

Здобувач самостійно здійснив написання розділів дисертації, підготував до публікацій і доповідей на конференціях матеріали наукових робіт.

У наукових роботах, які виконані в співавторстві, автор реалізував свої наукові ідеї. Співавтори наукових робіт надавали технічну допомогу, допомогу в проведенні експериментального дослідження.

4. Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Достовірність положень та висновків роботи верифікована результатами морфологічного, гістологічного, біохімічного, статистичного досліджень і підтверджена практичним застосуванням клітинних технологій (збагаченої тромбоцитами плазми, клітин аспірату кісткового мозку та жирової тканини) в порівняльному аспекті на розвиток остеоартрозу. Комплексне експериментальне дослідження є багатоплановим та масштабним. Всебічно вивчені етапи розвитку остеоартрозу від місцевої запальної реакції, яка спричиняє дистрофічні зміни у хрящовій тканині, до прогресуючої деструкції суглобової поверхні. Досліджено ефекти дії клітинних суспензій та доведена їх участь в активації відновних реакцій в ушкоджених патологічним процесом структурах колінного суглоба.

Робота ґрунтується на принципах доказовості, системного підходу з позицій сучасних знань та положень. Використані сучасні методи дослідження. Поставлені завдання вирішені в повному обсязі і дозволили отримати нові дані щодо розуміння механізмів регенеративного впливу клітинних технологій та їх ролі в модифікації перебігу остеоартрозу.

Створена оригінальна модель остеоартрозу колінного суглобу, яка полягає у перетині медіальної зв'язки, локальному пошкодженні поверхні хряща медіального виростка великогомілкової кістки та коагуляції судин медіальної поверхні капсули колінного суглобу. Досліджено особливості перебігу експериментального хронічного остеоартрозу у тварин (терміни 1,5 і 2,5 місяці). Встановлено пошкодження основних структурних утворень колінного суглобу, локалізацію та рівень деформаційних змін. Гістологічними методами виявлено топографічні особливості розвитку дистрофічних змін

гіалінового хряща колінного суглобу, які оцінено як остеоартроз. Встановлено залежність розвитку пошкодження синовіальної оболонки, менісків, запалення, деструкції субхондральної кісткової тканини від прогресуючої дегенерації суглобової поверхні великогомілкової кістки.

Досліджено порівняльний вплив ЗТП, аспіратів клітин кісткового мозку та жирової тканини на розвиток остеоартрозу. Встановлено трофічну та регенеративну дію клітинних технологій у відновленні тканин суглобу. Вперше виявлено додаткову інтеграцію клітин кісткового мозку та адипоцитів із меніском і синовіальною оболонкою. В порівняльному плані, введення ЗТП й аспірату кісткового мозку додатково пригнічувало деструктивні зміни на рівні субхондральної кістки. У рівній мірі, встановлено нормалізацію показників глутатіону та ферментативної системи антиоксидантного захисту. Це пояснюється трофічною підтримкою клітинних технологій, пригніченням окислювального стресу і запалення. На відміну від введення збагаченої тромбоцитами плазми та клітин жирової тканини, введення клітин аспірату кісткового мозку суттєво зменшувало прояви пошкодження меніска суглобу, а також синовіальної мембрани капсули й активувало відновлення біохімічних параметрів.

Усі наукові положення, висновки і рекомендації, що впливають із отриманих результатів, можна вважати обґрунтованими та достовірними.

5. Наукове та практичне значення роботи.

Наукова новизна:

Вперше в порівняльному аспекті досліджено вплив клітинних аспіратів різних тканин на розвиток структурних порушень у колінному суглобі та біохімічних змін у крові на тлі розвитку експериментального деформуючого остеоартрозу.

Розроблено оригінальну експериментальну модель післятравматичного деформуючого остеоартрозу, яка полягає у відтворенні локального

механічного дефекту, перетину медіальної зв'язки і термокоагуляції кровоносних судин капсули суглобу. Комплексний вплив цих чинників призводить до нестабільності суглобу, змін біомеханіки, розвитку запальної реакції з ішемізацією параартикулярних тканин. Спостерігається прогресуючий розвиток дегенеративних змін суглобової поверхні та менісків.

Доведено, що при моделюванні остеоартрозу колінного суглобу в експерименті у термін від 1,5 до 2,5 місяців розвиваються фіброзні зміни у зовнішньому шарі капсули з пошкодженням судин. Дистрофічні зміни проявляються у порушенні структури синовіальної оболонки з редукцією клітин синовіальної мембрани і мікросудин у ворсинках.

Встановлено, що на тлі остеоартрозу відбуваються прогресуюче пошкодження менісків і зменшення товщини перифокального гіалінового хряща на 43,7 %. У термін 1,5 місяці структурними ознаками пошкодження меніска є набряк клітинних лакун хрящового тіла меніска. У термін 2,5 місяці спостерігаються загибель хондроцитів і редукція щільності ізогенних груп клітин у хондромукоїді з появою безклітинних лакун у тілі меніска, збільшення щільності сполучної тканини меніска, редукція хондроцитів епіфізарного хряща та резорбція субхондральної кісткової тканини та кісткового мозку.

Досліджена дія аспіратів кісткового мозку та жирової тканини, яка полягає у інтеграції введених клітин із синовіальною оболонкою та сполучною тканиною менісків, що вказує на життєздатність клітин аспіратів впродовж 1,0 місяця на тлі розвитку патологічного процесу та їх, ймовірно, паракринну участь у процесах ремоделювання та регенерації пошкоджених тканин. У порівняльному аспекті тканинні реакції були більш вираженими після введення аспірату кісткового мозку, ніж жирової тканини. Вони полягали у морфогенезі ретикулярної тканини і посиленні ангиогенезу. ЗТП у синовіальній оболонці та менісках не викликала додаткового розвитку тканин.

Визначено, що дія ЗТП, клітин кісткового мозку та жирової тканини щодо гіалінового хряща великогомілкової кістки на моделі

після травматичного остеоартрозу була неспецифічною. Після введення ЗТП встановлено статистично більшу товщину суглобового хряща на 18,2 %, що пов'язано з кращим збереженням хондромукоїду, без вираженого збереження ізогенних груп хондроцитів у перифокальному хрящі. Після введення клітин кісткового мозку та жирової тканини не виявлено достовірної затримки деструкції гіалінового хряща (редукція товщини перифокального хряща на 54,1 % після введення аспірату кісткового мозку і 48,5 % – жирової тканини), незважаючи на часткове збереження хондроцитів у глибоких шарах хрящової тканини.

Доведено, що дія ЗТП і аспірату кісткового мозку позначилась у пригніченні пошкодження субепіфізарної кісткової тканини на 17,8 % і 23,6 %, тоді як введення жирової тканини не мало позитивного впливу та було пов'язано з розвитком запальної реакції на введений аспірат жирової тканини.

Встановлено, що при відтворенні остеоартрозу колінного суглобу в плазмі крові виявляється високий рівень церулоплазміну, активності лейкоцитарної еластази і мієлопероксидази (збільшення на 44,3 %, 214,2 % і 271,4 % відповідно). Ці дані свідчать про розвиток запалення, зниження активності антиоксидантної системи при рості продуктів окисної модифікації ліпідів та білків. Це виникає внаслідок окисного стресу на тлі ішемічних, дегенеративних, травматичних і запальних змін із одночасним виснаженням антиоксидантної системи ендogenous захисту. Встановлено сильний кореляційний зв'язок біохімічних показників запалення з пошкодженням структурних утворень колінного суглобу.

Досліджено, що після введення клітинних аспіратів зменшився рівень прозапальної активності лейкоцитів периферійної крові. У порівняльному аспекті дія усіх трьох клітинних аспіратів позначилась на зменшенні активності мієлопероксидази, а при введенні ЗТП – додатково й еластази. Після застосування аспірату кісткового мозку та клітин жирової тканини достовірно зменшувався рівень церулоплазміну (зменшення на 13,3 % і 16,5 %), тоді як використання ЗТП не мало такого ефекту.

Після введення ЗТП і аспірату жирової тканини зменшилась окисна модифікація ліпідів і білків. При застосуванні аспірату кісткового мозку спостерігали аналогічну дію, за винятком вмісту тіобарбітурової кислоти - реагуючих продуктів.

Відновлення антиоксидантної системи шляхом активації каталази і супероксиддисмутази (СОД) у більшій мірі відбувається після введення аспірату клітин кісткового мозку, у меншій мірі – жирової тканини (каталази на 18,9 %, 12,4 % і 6,7 %; СОД на 33,4 %, 33,1 % і 29,7 % відповідно), а ЗТП – тільки неферментативної ланки, пов'язаної з глутатіоном (на 47,8 %, 39,3 %, 41,8 % відповідно). Встановлено, що клітинні аспірати оптимізують відновлення метаболічних процесів у тканинах суглобу. Це з високою достовірністю і рівнем кореляції відображається у біохімічних показниках периферійної крові тварин та є проявом трофічної та регенеративної дії цих засобів, але у більшій мірі вони проявляються при введенні аспірату кісткового мозку.

Практичне значення отриманих результатів та їх впровадження в практику.

Одержані результати дослідження розширюють уявлення сучасної концепції патогенезу остеоартрозу. Показники біохімічного профілю периферійної крові, які вивчались при моделюванні остеоартрозу в експерименті, можуть бути використані для оцінки перебігу захворювання та динаміки реабілітації. Створено наукові передумови для застосування клітинних технологій у хворих, з метою терапії остеоартрозу. Доведено біологічну безпечність застосування аутологічних клітинних суспензій кісткового мозку та жирової тканини при введенні у колінний суглоб. Результати дисертаційного дослідження можуть слугувати підґрунтям для удосконалення та розробки нових підходів у лікуванні пацієнтів із хронічними запальними і дегенеративними захворюваннями колінного суглобу.

6. Використання результатів роботи.

Результати дисертаційного дослідження впроваджено в практику науково-практичного центру регенеративної ортопедії та інноваційних біомедичних технологій і відділів ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», ортопедо-травматологічного відділення КНП «Немирівська міська лікарня».

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

Матеріали дисертаційної роботи Ткачука П.В. повністю висвітлені в опублікованих наукових працях. Результати дисертаційного дослідження відображають 7 опублікованих праць за темою дисертації, з них 5 статей у провідних фахових виданнях, що наведені в переліку затверджених ДАК МОН України, 1 стаття у науковому виданні проіндексованому у базах даних Scopus; отримано 1 Патент України на корисну модель.

Список публікацій за темою дисертації:

1. Ткачук ПВ, Страфун СС, Савосько СІ, Макаренко ОМ. Спосіб моделювання хронічного остеоартрозу колінного суглоба у кролів. Патент України на корисну модель № 130791, Опубл. 26.12.2018, бюл. № 24. Доступний через: <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=253962>.

2. Ткачук ПВ, Страфун СС, Кучменко ОБ, Савосько СІ, Гайович ІВ, Макаренко ОМ, Мхітарян ЛС, Дроботько ТФ. Оцінка впливу тромбоцитарної плазми на біохімічні показники крові в експериментальній моделі остеоартрозу колінного суглоба. Травма. 2019;20(4): 39–45. *(Особистий*

внесок – вивчення літератури за темою, проведення експериментів на лабораторних тваринах, підготовка статті до друку).

3. Ткачук ПВ, Страфун СС, Савосько СІ, Макаренко ОМ. Вивчення структурних особливостей при експериментальному хронічному остеоартрозі колінного суглоба в кролів. Травма. 2018;19(6):71-76. *(Особистий внесок – аналіз отриманих даних, статистична обробка та узагальнення результатів експериментів, підготовка статті до друку).*

4. Ткачук ПВ, Страфун СС. Морфологічна оцінка структурних змін колінного суглобу при експериментальному остеоартрозі та застосуванні аутологічного аспірату кісткового мозку. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019;19, вип. 4(68): 88-94. *(Особистий внесок – автор самостійно оволодів методикою отримання аутологічного аспірату кісткового мозку, проводив експериментальні дослідження на дослідних тваринах з моделлю остеоартрозу, підготував статтю до друку).*

5. Ткачук ПВ, Страфун СС, Савосько СІ, Макаренко ОМ. Структурні порушення колінного суглоба при моделюванні остеоартрозу. Травма. 2019;20(1): 73–78. *(Особистий внесок – автор самостійно проводив експериментальні дослідження, статистичну обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів).*

6. Ткачук ПВ, Страфун СС. Дослідження впливу клітинних технологій на розвиток остеоартрозу колінного суглобу в експерименті. Травма. 2019;20(5): 20-27. *(Особистий внесок – автор самостійно виконував експериментальні дослідження, провів порівняльний аналіз використання аспіратів клітин різних тканин, підготував рукопис статті до друку).*

7. Tkachuk P, Savosko S, Strafun S, Kuchmenko O, Makarenko O, Mkhitaryan L, Drobotko T. Correlation of blood biochemical indicators with the level of knee joint damage in the model of the posttraumatic osteoarthritis. Georgian Med News. 2020;309:135-141. *(Особистий внесок – розробка плану досліджень, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка рукопису до*

друку).

8. Апробація матеріалів дослідження.

Основні положення та результати роботи були обговорені на:

- 42 Наукових читаннях імені О.О. Богомольця, 24 травня 2021 року, Київ;
- III з'їзді ГО «Всеукраїнської асоціації травматології та остеосинтезу», 12-13 березня 2020 року, Київ;
- Науково-практичній конференції «Актуальні питання артроскопічної хірургії колінного суглобу», 25 вересня 2020 року, Київ;
- IV Науковому симпозиумі з міжнародною участю «Захворювання кістково-м'язової системи та вік», присвячений пам'яті В. В. Поворознюка, «Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу», 21–22 жовтня 2021 року, Київ;
- щорічних наукових читаннях імені проф. Є.Т. Скляренка «Впровадження наукових розробок в практику», на онлайн платформі, Київ;
- засіданнях Вченої ради ДУ «Інституту травматології та ортопедії» НАМН України 2021 та 2022 років.

Оцінка мови та стилю дисертації.

Дисертаційна робота Ткачука П.В. «Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)» написана українською мовою в науковому стилі, грамотно та доступно для сприйняття.

9. Відповідність змісту дисертації спеціальності, за якою вона надається до захисту.

Дисертація Ткачука П.В. на здобуття ступеня доктора філософії «Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)» є закінченою науково-дослідницькою роботою, зміст якою

відповідає її назві, галузі знань 22 Охорона здоров'я та спеціальності 222 Медицина.

10. Рекомендація дисертації до захисту.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина аспіранта Ткачука П.В. «Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)» є завершеною науковою працею, що виконана здобувачем особисто, має наукову новизну, теоретичне та практичне значення.

У дисертації наведено нове вирішення актуального наукового завдання ортопедії і травматології, а саме лікування остеоартрозу, що має істотне значення для галузі знань Охорона здоров'я, спеціальності Медицина.

Дисертація Ткачука Павла Вячеславовича має наукову новизну, теоретичне та практичне значення і повністю відповідає вимогам п. 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 і може бути подана до разової спеціалізованої вченої ради для офіційного захисту.

Голова Проблемної комісії
ДУ «Інститут травматології
та ортопедії НАМН України»,
д. мед. н., професор

М. П. Грицай

Підпис за під. Біддінчу, голови Проблемної комісії засвідчує: нач. від. секретарів Л. Панченко



Л. Панченко (Ученый секретар Л. Панченко)