

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

доктора медичних наук, професора, завідувача ортопедо-травматологічним відділенням Науково-дослідного інституту реабілітації осіб з інвалідністю (ннлк) Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Безсмертного Юрія Олексійовича на дисертаційну роботу аспіранта заочної форми навчання ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» ТКАЧУКА Павла Вячеславовича на тему: **"Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)"**, представлену до захисту у спеціалізовану вчену раду при ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 "Охорона здоров'я" за спеціальністю 222 "Медицина" (спеціалізація 14.01.21 травматологія та ортопедія)

Актуальність обраної теми дисертаційного дослідження

Проблема остеоартрозу в останні роки набула великого медико-соціального значення. Це зумовлено значною поширеністю захворювання, швидким розвитком функціональних порушень, зростанням показників тимчасової та стійкої втрати працездатності, різким зниженням якості життя хворих.

На ранніх стадіях остеоартрозу актуальною є проблема відновлення хрящової тканини, яка має низький репаративний потенціал, а за умов відсутності таргетного лікування призводить до повної дегенерації хряща та прогресування захворювання. Існуючі консервативні підходи з лікування дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів у вигляді модифікації способу життя, призначення фізичних вправ, корекції ваги, застосування внутрішньосуглобових ін'єкцій глюкокортикостероїдів, препаратів гіалуронової кислоти мають низьку ефективність навіть при поєднаному їх застосуванні.

На сучасному етапі активно обговорюється ефективність використання високотехнологічних клітинних та тканинних технологій в лікуванні дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів, зокрема аутологічних мезенхімальних клітин, які здатні пригнічувати імунні та запальні реакції, виділяти велику кількість біологічно активних речовин, що прискорюють метаболізм, активують роботу високоспеціалізованих клітин, володіють здатністю до проліферації та диференціації в інші типи клітин. Передбачається, що мезенхімальні клітини кісткового мозку та жирової

тканини здатні диференціюватися у хондроцити, адипоцити, фібробласти, а також паракринно впливати на ангиогенез та регенерацію тканин.

Потреба в досконалому вивченні проблематики зумовлена суттєвими розбіжностями у поглядах дослідників щодо використання різних клітинних та тканинних технологій при дегенеративно-дистрофічних захворюваннях опорно-рухового апарату. Крім того, залишаються суперечливими питання їх впливу на структурно-функціональний стан тканин вже скомпроментованого травмою чи захворюванням суглобу.

Представлена дисертаційна робота Ткачука Павла Вячеславовича на тему: "Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)", є актуальною та своєчасною, оскільки спрямована на вирішення важливого завдання сучасної травматології та ортопедії – вивченню впливу збагаченої тромбоцитами плазми, клітин аспірату кісткового мозку та жирової тканини на розвиток структурних порушень колінного суглоба на моделі деформуючого артрозу в експерименті.

Вищевикладене обумовлює необхідність, доцільність даного дисертаційного дослідження.

Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувача

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).

Дисертаційна робота виконана на високому науково-методичному рівні, підґрунтям якого є якісний науково-патентний пошук, який базується на аналізі 185 джерел літератури за напрямком дослідження, 11 з яких написані кирилицею, 174 – латиницею, чітке визначення мети дослідження та постановка завдань для її досягнення, комплексним використанням теоретичних методів дослідження, експериментального моделювання, морфологічного та біохімічного досліджень, ретельно обраних методів статистичного аналізу результатів досліджень. Все це дозволило отримати нові знання стосовно впливу клітинних аспіратів різних тканин на розвиток структурних порушень у колінному суглобі та біохімічних змін у крові, на тлі розвитку експериментального деформуючого остеоартрозу.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 6 наукових статей, з них 1 індексується у наукометричній базі Scopus та 5 у фахових виданнях, рекомендованих ДАК МОН України, 3 тези у матеріалах наукових конгресів і

конференцій, одержано 1 Патент України на корисну модель. Всі публікації є сучасними науковими працями, які підготовлені на високому науковому рівні відповідно до сучасних вимог.

Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачем досліджень, повнота викладу в опублікованих працях

Наукова новизна роботи полягає в тому, що автором вперше комплексно й ґрунтовно виконано експериментальне дослідження з вивчення впливу збагаченої тромбоцитами плазми, аспіратів кісткового мозку і жирової тканини на структурно-функціональний стан тканин суглоба на тлі остеоартрозу. Створена нова експериментальна модель остеоартрозу, на основі перетину медіальної зв'язки, локального механічного дефекту суглобового хряща і термокоагуляції кровоносних судин капсули суглобу. З'ясовано, що за умов нестабільності суглобу, змін біомеханіки, розвитку запальної реакції, ішемізації параартикулярних тканин розвиваються дегенеративні змін в суглобі. Дисертантом показано високу ефективність застосування аспіратів кісткового мозку і жирової тканини, інтеграцію введених клітин з синовіальною оболонкою та сполучною тканиною менісків, що вказує на життєздатність клітин аспіратів упродовж одного місяця, на тлі розвитку патологічного процесу, та їх паракринну участь у процесах ремоделювання та регенерації пошкоджених тканин. Одержані результати дослідження розширюють уявлення сучасної концепції патогенезу остеоартрозу. Показники біохімічного профілю периферійної крові, які вивчались при моделюванні остеоартрозу в експерименті, використані для оцінки розвитку та перебігу захворювання.

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

Дисертантом опановано сучасні методи дослідження, а саме: експериментальний (моделювання остеоартрозу), гістологічний (дослідження структурних порушень у тканинах суглоба), морфометричний (кількісна оцінка змін суглобового хряща та субхондральної кісткової тканини), біохімічний (дослідження змін прооксидантно-антиоксидантного балансу, маркерів запалення), методи математичної статистики, використання яких у сукупності забезпечило достовірні результати.

Для реалізації поставлених завдань роботи виконано експериментальне дослідження на кролях. Автором запропонована оригінальна модель остеоартрозу колінного суглоба, яка полягає у поєднанні двох залежних патогенетичних чинників: травматичного дефекту зв'язкового апарату, супутнього та ішемічного пошкодження тканин.

За результатами проведених морфологічних та біохімічних досліджень автор встановив потенційну дію збагаченої тромбоцитами плазми, аспірату кісткового мозку та жирової тканини, яка полягає у пригніченні розвитку запалення і деструктивних змін у субхондральній кістці, капсулі суглоба та менісках. Введення аспірату кісткового мозку пригнічувало пошкодження меніска колінного суглоба та синовіальної оболонки патологічно зміненого колінного суглоба, порівняно із застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми та клітин жирової тканини. Це відобразилось на відновленні досліджуваних біохімічних показників.

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

Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності

Дисертаційна робота виконана на належному науково-методичному рівні. Детально розроблений і методологічно обґрунтований план дисертаційного дослідження дозволив автору отримати цілком репрезентативні дані, виконати всі завдання, реалізувати поставлену мету. Застосовано досить повний спектр досліджень: поглиблений аналіз літературних джерел, експериментальне моделювання остеоартрозу, гістологічне, морфометричне та біохімічне дослідження з оцінкою змін маркерів прооксидантно-антиоксидантного балансу та запального процесу. Статистичне оброблення даних проведено коректно, підтверджено значущість отриманих результатів, і цього цілком досить для отримання достовірних даних.

Теоретичне і практичне значення результатів дослідження

Дисертантом розроблена нова експериментальна модель остеоартрозу, на основі перетину медіальної зв'язки, локального механічного дефекту

суглобового хряща і термокоагуляції кровоносних судин капсули суглобу. Комплексний вплив цих чинників веде до нестабільності суглобу, змін біомеханіки, розвитку запальної реакції з ішемізацією параартикулярних тканин, що призводить до прогресуючого розвитку дегенеративних змін.

Автором вперше досліджено дію аспіратів кісткового мозку і жирової тканини в інтеграції введених клітин з синовіальною оболонкою та сполучною тканиною менісків, що вказує на життєздатність клітин аспіратів упродовж одного місяця, на тлі розвитку патологічного процесу, та їх паракринну участь у процесах ремоделювання та регенерації пошкоджених тканин. З'ясовано, що у порівняльному аспекті тканинної реакції були більш вираженими після введення аспірату кісткового мозку, ніж жирової тканини. Створено наукові передумови для застосування клітинних технологій у хворих, з метою терапії остеоартрозу. Результати дисертаційного дослідження можуть слугувати підґрунтям для удосконалення та розробки нових підходів у лікуванні пацієнтів із хронічними запальними і дегенеративними захворюваннями колінного суглоба.

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому

Зміст і структура дисертаційної роботи Ткачука П.В. відповідають вимогам щодо оформлення дисертаційних робіт. Робота написана українською мовою за традиційною схемою, складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Всі розділи дисертації викладені послідовно, ґрунтовно, у науковому стилі. Загальний обсяг роботи складає 177 сторінок комп'ютерного тексту. Дисертація проілюстрована 32 рисунками та 16 таблицями. Список використаних джерел включає 185 публікацій, з них 11 – кирилицею, 174 – латиницею.

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

Розділ 1 «Сучасний погляд на патогенез та проблематику дослідження остеоартрозу колінного суглоба» складається з трьох підрозділів. Дисертант на основі аналізу літератури розкриває сучасні погляди на патогенетичні аспекти розвитку та прогресування травматичного остеоартрозу колінного суглобу, наводить опис та особливості існуючих експериментальних моделей формування хронічного остеоартрозу великих

суглобів. Проводить поглиблений аналіз та порівняння ефективності існуючих засобів терапії експериментального остеоартрозу.

На основі аналізу літератури, дисертант окреслює невирішені та дискусатабельні питання ефективності використання клітинних та тканинних технологій в лікуванні дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів, обґрунтовує актуальність та доцільність запланованого дисертаційного дослідження. При написанні розділу дисертант опрацював значну кількість сучасних вітчизняних та зарубіжних публікацій, що свідчить про професійну компетенцію здобувача.

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

Результати власних досліджень викладено у 3-х розділах дисертації, а також в розділі «Аналіз та узагальнення отриманих результатів».

У розділі 3 «Порушення структурних елементів колінного суглоба при моделюванні остеоартрозу» автором наведено результати гістологічного дослідження структурних утворень колінного суглоба дослідних тварин, у яких моделювали експериментальний артроз. Показано, що в терміни від 1,5 до 2,5 місяців розвиваються фіброзні зміни у зовнішньому шарі капсули, відбувається прогресуюче пошкодження менісків та зменшення товщини перифокального гіалінового хряща на 43,7 %. У термін 2,5 місяці спостерігали загибель, збільшення щільності сполучної тканини меніска, редукцію хондроцитів епіфізарного хряща та резорбцію субхондральної кісткової тканини. Автором зроблено висновок, що життєздатність епіфізарного хряща суглоба залежить від адекватного кровопостачання оточуючих судин, і судинний чинник впливає на патогенез остеоартрозу. Матеріал розділу викладено в трьох підрозділах з детальним описом результатів дослідження капсули колінного суглоба, суглобових менісків, структурних змін суглобової поверхні колінного суглоба. Розділ написаний грамотно, проілюстрований достатньою кількістю рисунків.

Розділ 4 присвячений дослідженню впливу збагаченої тромбоцитарної плазми, клітин аспірату кісткового мозку та жирової тканини на розвиток структурних змін колінного суглоба при моделюванні остеоартрозу. Автором встановлено тенденцію до пригнічення розвитку дистрофічних змін у суглобовому хрящі і субхондральній кістковій тканині після введення збагаченої тромбоцитарної плазми. Введення аспірату кісткового мозку пригнічувало розвиток реорганізації кісткової тканини, але достовірно не

позначилось на дистрофічних змін у гіаліновому хрящі. Дія збагаченої тромбоцитами плазми і аспірату кісткового мозку позначилась у пригніченні пошкодження субепіфізарної кісткової тканини, тоді як введення жирової тканини не мало позитивного впливу та було пов'язане з розвитком запальної реакції на введений аспірат жирової тканини. Як і попередній, розділ написано змістовно, добре ілюстрований рисунками.

Розділ 5 складається з чотирьох підрозділів в яких автор висвітлив результати дослідження біохімічних показників крові при остеоартрозі колінного суглоба та після введення збагаченої тромбоцитами плазми, аспіратів кісткового мозку та жирової тканини. В даному розділі з'ясовано, що введення клітинних аспіратів супроводжувалось зменшенням рівня прозапальної активності лейкоцитів периферійної крові. Після застосування аспірату кісткового мозку та клітин жирової тканини достовірно зменшився рівень церулоплазміну, тоді як після використання збагаченої тромбоцитами плазми такий ефект був відсутнім. Дисертантом зроблено підсумок, що клітинні аспірати оптимізують відновлення метаболічних процесів у тканинах суглобу, що відображається у біохімічних показниках периферійної крові тварин та є проявом їх трофічної та регенеративної дії, яка найбільш реалізується при введенні аспірату кісткового мозку. Результати біохімічних досліджень оброблені методами статистичного аналізу.

У розділі **«Аналіз та узагальнення отриманих результатів»** дисертантом проаналізовано всі етапи проведеного експерименту. Одержані результати дослідження суттєво розширюють уявлення про можливості застосування клітинних аспіратів і значно доповнюють вже існуючі відомості. Автор констатує, що клітинні аспірати і, в першу чергу, клітини – похідні кісткового мозку, є перспективним напрямком у лікуванні остеоартрозу. Дія цих введених клітин полягає у трофічній підтримці тканин суглобу, у більшій мірі – капсули і менісків, тобто здійснює оптимізуючий вплив на відновні процеси.

Статистична обробка отриманих даних виконана за допомогою програмного забезпечення Origin Lab версії 8.0. Оцінку розподілу вибірок даних проведено за критерієм Колмогорова-Смирнова, міжгрупову різницю оцінено за непараметричним тестом Крускала-Уолліса та U-критерієм Манна-Уїтні.

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

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

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

Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці

Оскільки результати дисертаційного дослідження мають вагомe теоретичне та практичне значення, вони можуть бути використані як у навчальному процесі здобувачів вищої освіти в галузі охорони здоров'я, так і в практичній діяльності лікарів під час лікування хворих з травмами та захворюваннями опорно-рухового апарату.

Зауваження щодо змісту та оформлення дисертації, запитання до здобувача

Суттєвих зауважень до змісту дисертації немає. Дисертація написана українською мовою з дотриманням усіх норм наукового стилю. Під час наукової дискусії прошу дисертанта відповісти на наступні запитання.

В розробленій експериментальній моделі остеоартрозу Ви проводили свердління хряща та субхондральної кісткової тканини. Відомо, що такі процедури, як свердління, мікрофрактуризація, мікророзриви, сприяють хондрогенезу шляхом прямої стимуляції кісткового мозку, індукції стовбурових мезенхімальних клітин кісткового мозку субхондральної кістки. Чи враховували Ви при плануванні експерименту вплив власних мезенхімальних клітин кісткового мозку на репаративного процес?

Наскільки безпечним є використання мезенхімальних клітин кісткового мозку та жирової тканини в клінічній практиці, і які додаткові дослідження необхідно провести для більш широкого їх застосування в майбутньому ?

Які з досліджених біохімічних маркерів або їх поєднань були найбільш чутливими та інформативними і могли б слугувати предикторами несприятливого перебігу остеоартрозу?

Мають місце також дрібні недоліки дидактичного та технічного характеру, що ніяким чином не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності

Автор не порушував принципи академічної доброчесності під час виконання дисертаційного дослідження та написання роботи. Рукопис дисертації Ткачука Павла Вячеславовича на тему: "Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)" було перевірено на ознаки плагіату за допомогою програмного забезпечення StrikePlagiarism. Звіт подібності показав Коефіцієнт 1 – 6,82%, Коефіцієнт 2 – 2,30%, що відповідає допороговим значенням подібності символів, слів, словосполучень, та речень в академічних текстах та свідчить про ознаки оригінальності поданого до аналізу тексту.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Ткачука Павла Вячеславовича на тему: "Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження)", що представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 22 «Охорона здоров'я» 222 «Медицина» є завершеною самостійною науковою роботою, у якій на основі проведених досліджень на високому науковому та методологічному рівні з високим ступенем вірогідності розроблено та обґрунтовано вирішення важливого питання – вивчення впливу збагаченої тромбоцитами плазми, клітин аспірату кісткового мозку та жирової тканини на розвиток структурних порушень колінного суглоба на моделі деформуючого артрозу в експерименті.

За актуальністю теми, методологією дослідження, достовірністю отриманих результатів, змістом, обґрунтованістю результатів, висновків і практичних рекомендацій, теоретичним та практичним значенням дисертаційна робота Ткачука Павла Вячеславовича повною мірою відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44, та оформлена відповідно до наказу МОН України №40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації», а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я»

за спеціальністю 222 «Медицина» (спеціалізація 14.01.21 травматологія та ортопедія).

Офіційний опонент:

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



Юрій БЕЗСМЕРТНИЙ

*Гурне професора Ю. Безсмертного
завідувач.* *Синишнюк*

