НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ТРАВМАТОЛОГІЇ ТА ОРТОПЕДІЇ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ГОЛЮК ЄВГЕН ЛЕОНТІЙОВИЧ

УДК [616.728.2/.3-007.2:616.718.4/.6-002.4]:617-089.844:616-089.819:616-018.1"712.4" (043.5)

РЕГЕНЕРАТИВНІ ІНТЕРВЕНЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗІ ТА АСЕПТИЧНОМУ НЕКРОЗІ КУЛЬШОВОГО ТА КОЛІННОГО СУГЛОБІВ

(клініко-експериментальне дослідження)

Спеціальність 14.01.21 − травматологія та ортопедія
222 – Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело_____Є.Л. Голюк

Київ−2025

АНОТАЦІЯ

Голюк Є.Л. Регенеративні інтервенційні технології при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів (клініко-експериментальне дослідження) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.21 «Травматологія та ортопедія» (222 – Медицина). – ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», Київ, 2025.

Дисертація присвячена лікуванню остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів за допомогою регенеративних технологій. Актуальність роботи є беззаперечною, оскільки в Україні остеоартроз є найпоширенішим захворюванням суглобів. Ця патологія є також провідною причиною болю в суглобах, що призводить до значного погіршення якості життя та інвалідизації людей не лише похилого, а й працездатного віку. Як найпоширеніша форма ураження суглобів, остеоартроз обумовлює суттєві медичні та соціальні витрати у всьому світі. Частота асептичного некрозу постійно зростає і також є однією з провідних причин ендопротезування суглобів. Відомі сьогодні медикаментозні засоби для лікування остеоартрозу спрямовані, насамперед, на зменшення больового синдрому та пригнічення запалення. Оперативні втручання, рекомендовані у пацієнтів з остеоартрозом також не передбачають регенерацію тканин опорно-рухового апарату. Саме тому регенеративні технології на сьогодні стають однією з провідних альтернатив традиційним методам лікування зазначених захворювань.

Мета роботи - розробити персоналізований підхід до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, шляхом вдосконалення методології їх обстеження, визначення критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів та аналізу результатів їх клінічного впровадження.

Матеріали і методи. Дослідження ми розділили на два напрями – експериментальний та клінічний. Загальну групу дослідження склали 1640 пацієнтів. Методи дослідження, які ми використовували в роботі: загальноклінічний, лабораторний, мікробіологічний, інструментальні (рентгенологічний, ультразвуковий, магнітно-резонансна томографія), рентгенморфометричний, культуральний, статистичний.

За результатами експериментального і*n vitro* дослідження встановлено протизапальний, прорегенеративний, антидеструктивний вплив мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на прикладі концентратів периферичної крові.

Розроблено методологію обстеження донорів кісткової тканини для виготовлення скаффолдів та встановлено, що придатними для донорства є близько 30% усіх обстежуваних потенційних донорів. Розроблено методологію виготовлення кісткових скаффолдів з головок стегнових кісток, отриманих від живих донорів під час ендопротезування кульшового суглоба, яка є валідованою та дозволяє отримати якісний та безпечний алогенний біотехнологічний продукт в умовах окремого госпіталя.

Розроблено технології і методики забору та обробки біотехнологічних продуктів з периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини. Розроблено класифікацію біотехнологічних продуктів, а також аутологічних концентратів периферичної крові, спосіб отримання дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини та способи отримання комбінованих біотехнологічних продуктів на основі алогенних кісткових скаффолдів та аутологічних концентратів периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини для внутрішньокісткового введення. Встановлено лабораторні, морфологічні, морфогенетичні, епігенетичні, проліферативні, мікробіологічні, візуалізаційні, клінічні критерії якості та безпеки біотехнологічних продуктів та їх застосування.

Розроблено методологію клінічного, лабораторного та інструментального обстеження пацієнтів при застосуванні регенеративних технологій, а також ультразвукові навігаційні доступи до кульшового та колінного суглобів для інтервенційного введення біотехнологічних продуктів. Вдосконалено методику внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів. Також розроблено методологічні засади застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів на основі аналізу таких біомаркерів, як скелетна зрілість і період статевого розвитку.

За результатами аналізу лікування пацієнтів встановлено, що при 1-й та 2-й стадіях отримано позитивний результат після застосування концентратів периферичної крові; у пацієнтів з 3-ю стадією остеоартрозу для отримання тривалого позитивного ефекту необхідним є застосування концентратів кісткового мозку і жирової тканини, як другого етапу лікування. При порівняльному аналізі застосування регенеративних інтервенційних технологій на прикладі застосування аутологічних концентратів периферичної крові у пацієнтів з пошкодженнями менісків та 1-ю і 2-ю стадіями гонартрозу з фізичною терапією, прийомом нестероїдних протизапальних засобів та артроскопічною парціальною резекцією меніска продемонстровано ефективність застосування регенеративних інтервенційних технологій як у короткостроковій, так і у віддаленій перспективі. Встановлено, що показники якості життя пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, яким проводилася передопераційна підготовка шляхом внутрішньосуглобового введення аутологічних концентратів периферичної крові, продемонстрували кращу динаміку щодо знеболення та покращення функції суглоба. Розроблено концептуальні засади персоналізованого підходу до застосування регенеративних інтервенційних технологій у досліджуваних пацієнтів.

Ключові слова: остеоартроз, асептичний некроз, кульшовий суглоб, колінний суглоб, регенеративні технології, біотехнологічні продукти, скаффолди, біомаркери, скелетна зрілість, ремоделяція, збагачена тромбоцитами плазма, аутологічні концентрати периферичної крові, аспірат кісткового мозку, персоналізований підхід.

ANNOTATION

Holiuk Ye.L. Regenerative interventional technologies in osteoarthritis and avascular necrosis of the hip and knee (clinical and experimental study) – Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Medical Sciences in the specialty 14.01.21 "Traumatology and Orthopedics" (222 – Medicine). – State Institution "Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, 2025.

The dissertation is devoted to the treatment of osteoarthritis and avascular necrosis of the hip and knee joints using regenerative technologies. The relevance of the work is undeniable, since in Ukraine osteoarthritis is the most common joint disease. This pathology is also the leading cause of joint pain, which leads to a significant deterioration in the quality of life and disability of people not only of advanced age, but also of working age. As the most common form of joint damage, osteoarthritis causes significant medical and social costs worldwide. The frequency of aseptic necrosis is constantly increasing and is also one of the leading reasons for joint replacement. The medications known today for the treatment of osteoarthritis are aimed primarily at reducing pain, suppressing inflammation, and improving the structure and trophism of cartilage. Surgical interventions recommended for patients with osteoarthritis also do not involve the regeneration of musculoskeletal tissues. That is why regenerative technologies are now becoming one of the leading alternatives to traditional methods of treating these diseases.

The purpose of the work is to develop a personalized approach for the use of regenerative interventional technologies in patients with osteoarthritis and avascular necrosis of the hip and knee, by improving the methodology of their examination, determining the criteria of quality and safety of biotechnological products, and analyzing the results of their clinical implementation.

Materials and methods. We divided the research into two areas - experimental and clinical. The total study group consisted of 1640 patients. The research methods that we used in the work: clinical, laboratory, microbiological, instrumental (X-ray, ultrasound, magnetic resonance imaging), X-ray morphometric, cultural, statistical.

According to the results of an experimental in vitro study, the anti-inflammatory, pro-regenerative, anti-destructive effect of minimally manipulated biotechnological products on the example of peripheral blood concentrates was established.

A methodology for examining bone tissue donors for the manufacture of scaffolds was developed and it was found that about 30% of all examined potential donors are suitable for donation. A methodology for manufacturing bone scaffolds from femoral heads obtained from living donors during hip joint replacement was developed, which is validated and allows obtaining a high-quality and safe allogeneic biotechnological product in a separate hospital.

Technologies and methods for the collection and processing of biotechnological products from peripheral blood, bone marrow aspirate and adipose tissue have been developed. A classification of biotechnological products, as well as autologous peripheral blood concentrates, a method for obtaining a dosed autologous human platelet concentrate and methods for obtaining combined biotechnological products based on allogeneic bone scaffolds and autologous peripheral blood concentrates, bone marrow aspirate and adipose tissue for intraosseous administration have been developed. Laboratory, morphological, morphogenetic, epigenetic, proliferative, microbiological, imaging and clinical criteria for the quality and safety of biotechnological products and their application have been established.

A methodology for clinical, laboratory and instrumental examination of patients using regenerative technologies has been developed, as well as ultrasound navigational accesses to the hip and knee joints for interventional administration of biotechnological products. The method for intraosseous administration of biotechnological products has been improved. Methodological principles for the use of regenerative technologies in children and adolescents with diseases of the hip and

knee joints were also developed based on the analysis of biomarkers such as skeletal maturity and the period of sexual development.

According to the results of the analysis of the treatment of patients with regenerative intervention technologies, it was found that at stages 1 and 2 a positive result was obtained after the use of peripheral blood concentrates, in patients with the third stage of osteoarthritis, to obtain a long-term positive effect, it is necessary to use bone marrow and adipose tissue concentrates as the second stage of treatment. In a comparative analysis of the use of regenerative intervention technologies on the example of the use of autologous peripheral blood concentrates in patients with meniscal injuries and stages 1 and 2 of gonarthrosis with physical therapy, taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs and arthroscopic partial meniscus resection, the results obtained demonstrate the effectiveness of the use of regenerative interventional technologies in both the short-term and long-term. It was established that the quality of life indicators of patients with osteoarthritis and avascular necrosis of the hip and knee, who underwent preoperative preparation by intra-articular administration of autologous peripheral blood concentrates, demonstrated better dynamics in terms of pain relief and improvement of joint function.

Conceptual principles of a personalized approach to the use of regenerative interventional technologies in the studied patients were developed.

Keywords: osteoarthritis, avascular necrosis, hip, knee joint, regenerative technologies, biotechnological products, scaffolds, biomarkers, skeletal maturity, remodeling, platelet rich plasma, autologous peripheral blood concentrates, bone marrow aspirate, personalized approach.

Список опублікованих праць за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Філіпчук ВВ, Крєслов ОІ, Озєров ІО, Голюк ЄЛ. Новий опитувальник для визначення функції кульшового суглоба у дітей та підлітків. Український медичний альманах. 2011;14(2):220-223. *Фахове видання, категорія Б.*

2. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ. Власний підхід до лікування юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки. Літопис травматології та ортопедії. 2011;(1-2 (21-22)):106-110. *Фахове видання, категорія Б* .

3. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ. Кут для оцінки та моніторингу ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу при юнацькому епіфізеолізі головки стегнової кістки. Літопис травматології та ортопедії. 2012;(1-2 (23-24)):59-61. *Фахове видання, категорія Б.*

4. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ. Прогнозування виникнення та перебігу синдрому феморо-ацетабулярного конфлікту у пацієнтів із юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Травма. 2013;14(2). DOI: 10.22141/1608-1706.2.14.2013.88633 *Фахове видання, категорія Б.*

5. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ, Біла ІІ. Фактори ризику виникнення синдрому феморо-ацетабулярного конфлікту в дітей та підлітків при хворобі Легга-Кальве-Пертеса. Травма. 2013;14(5):100-104. *Фахове видання, категорія Б.*

6. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Немеш ММ. Методика визначення скелетної зрілості у дітей та підлітків за рентгенограмами колінних суглобів. Літопис травматології та ортопедії. 2014;1-2 (29-30):37-40. *Фахове видання, категорія Б.*

7. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Аналіз результатів оперативного лікування пацієнтів з хворобою Ерлахера-Блаунта. Травма. 2014;15(3):27-29. *Фахове видання, категорія Б.*

8. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Мельник МВ. Прогнозування спастичного зміщення стегнової кістки у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем. Літопис травматології та ортопедії. 2015;1-2 (31-32):69-74. *Фахове видання, категорія Б.*

9. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Корекція варусної деформації гомілки при хворобі Блаунта. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2017;(2):33-39. *Фахове видання, категорія Б.*

10. Ракуха АВ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС. Вплив препаратів збагаченої та збідненої на тромбоцити плазми на метаболічний профіль моноцитів аутологічної периферичної крові людини *in vitro*. Вісник Одеського Національного університету. 2017;22(1(40):103-114. DOI: 10.18524/2077-1746.2017.1(40).96527 *Фахове видання, категорія Б.*

11. Martsynyak SM, Chornobai SP, Holyuk YeL, Bondariev GG. Modern Approach to Conservative Treatment of Degenerative Diseases of Joints Using Regenerative Medicine Techniques. Probl Cryobiol Cryomed. 2018; 28(1):79-83. DOI: 10.15407/cryo28.01.079 *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q3.*

12. Голюк ЄЛ, Пшениний ТЄ, Бондарєв ГГ, Сауленко КО. Досвід застосування методик пролотерапії при остеоартрозі колінного суглоба. Літопис травматології та ортопедії. 2018;1-2 (37-38):150-153. *Фахове видання, категорія Б.*

13. Гайко ГВ, Герасименко СІ, Голюк ЄЛ. Засади виготовлення алотрансплантатів за технологією локального кісткового банку. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2019;(1):68-78. *Фахове видання, категорія Б.*

14. Holiuk Ye, Yavorovska V, Bezdeneznykh N, Kozak T, Saulenko K. TGF-β1 level in platelet-rich plasma in patients with diseases and injuries of the musculoskeletal system Cell and Organ Transplantology. 2019;7(2):113-116.

DOI: 10.22494/cot.v7i2.104. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

15. Yavorovska V, Holiuk Ye, Magomedov O, Salmanova K, Saulenko K. The blood cells count in leukocyte and leukocyte-poor platelet-concentrated plasma in patients with musculoskeletal disorders. Cell and Organ Transplantology. 2020;8(1):13-19. DOI: 10.22494/cot.v8i1.104. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q3.*

16. Holiuk Ye, Pschenychny T, Ostapenko T, Yavorovska V, Magomedov O. Analysis of quality of life in patients with knee osteoarthritis after application of autologous leukocyte-rich and leukocyte-poor platelet-rich plasma. Cell and Organ Transplantology. 2020;8(2):131-138. DOI: 10.22494/cot.v8i2.112. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q3.*

17. Bondariev G, Holiuk Y, Darovskyi O, Saulenko K, Haidai O. Functional Results Analysis of L-PRP Application for Patients with Meniscus Injures of the Knee Joint. Georgian Medical News. 2020;11(308):14-19. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

18. Цепколенко ВО, Пшеничний ТЄ, Голюк ЄЛ, Тимочук ВВ, Деркач РВ. Використання аутомезоконцентрату тромбоцитів у пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(1(29):160-167. DOI: 10.26693/jmbs06.01.160. *Фахове видання, категорія Б.*

19. Голюк ЄЛ, Кабацій МС, Філіпчук ВВ, Мельник МВ, Лук’янова НЮ. Клініко-генеалогічне та епігенетичне обстеження пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2021;(2):18-24. DOI: 10.37647/0132-2486-2021-109-2-18-24. *Фахове видання, категорія Б.*

20. Голюк ЄЛ, Поляченко ЮВ, Страфун СС, Гайович ІВ, Пшеничний ТЄ. Концептуальні засади застосування регенеративних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Вісник

ортопедії, травматології та протезування. 2021;(3):20-27. DOI:10.37647/0132-2486-2021-110-3-20-27. *Фахове видання, категорія Б.*

21. Bezdieniezhnykh N, Holiuk Ye, Gerasymenko S, Saulenko K, Mayko V, Lykhova O. Evaluation of in vitro biocompatibility of scaffolds for the repair of bone defects. Cell and Organ Transplantology. 2021;9(2):96-102. DOI: 10.22494/cot.v9i2.128. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

22. Bondariev G, Strafun S, Holiuk Ye, Saulenko K, Darovskyi O, Syvak A. Comparative analysis of the use of L-PRP/L-PCP injections, arthroscopic partial resection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of the meniscus tears. Cell and Organ Transplantology. 2022;10(1):4-8. DOI: 10.22494/cot.v10i1.133. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

23. Strafun S, Holiuk Ye, Pschenychny T. Protocol for the examination and selection of potential living donors of bone tissue for the production of allografts Cell and Organ Transplantology. 2022;10(2):108-113. DOI: 10.22494/cot.v10i2.145. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

24. Holiuk Ye, Melnyk M, Filipchuk V, Ostapenko T, Strafun S. Skeletal maturity as a biomarker for determining indications for regenerative interventional technologies in adolescent patients with hip and knee diseases Cell and Organ Transplantology. 2023;11(1):14-24. DOI: 10.22494/cot.v11i1.150. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

25. Страфун СС, Голюк ЄЛ. Методологія обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій. Terra Orthopaedica. 2023;(3):22-31. *Фахове видання, категорія Б.*

26. Strafun S, Haiko O, Holiuk Ye, Klymchuk L, Maslova T. Ultrasound-guided accesses for regenerative injection therapy of the hip and knee Cell and Organ

Transplantology. 2024;12(1):28-37. DOI: 10.22494/cot.v12i1.164. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

27. Holiuk Ye, Strafun S, Lushchii O, Ostapenko T, Smorzhevskyi V. Development of classification and criteria of quality and safety of autologous platelet concentrates for regenerative injection therapy in traumatology and orthopedics. Cell and Organ Transplantology. 2024;12(2):76-83. DOI: 10.22494/cot.v12i2.167. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

28. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Науменко НО. Визначення скелетної зрілості кульшових суглобів дітей та підлітків у реконструктивній хірургії кульшових суглобів. Тези у збірнику наукових праць XVI з'їзду ортопедів-травматологів України, Харків. 2013:314-315.

29. Кабацій МС, Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ, Мельник МВ, Немеш ММ. Малоінвазивні оперативні втручання в ранніх стадіях хвороби Блаунта. Тези у збірнику наукових праць XVI з'їзду ортопедів-травматологів України, Харків. 2013:327-328.

30. Голюк ЄЛ. Регенеративні технології в травматології та ортопедії: можливості та перспективи. Тези доповіді міжнародної конференції «Актуальні питання сучасної пластичної хірургії, естетичної медицини та дерматології», Одеса. 2015:29.

31. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ. Застосування регенеративних технологій в травматології та ортопедії. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні питання розвитку медичних наук 2 XXI ст.», Львів. 2015:45-47.

32. Goliuk I, Filipchuk V, Kabatsii M, Melnyk M. Czinniki ryzyka spastycznego przemieszczenie uda u pacjentow z mozgowym porazeniem dziciecym. Tezy XXV Sympozium Sekcji Ortopedii Dzeciecei Polskiego Towarzystwa Ortopedycznego I Traumatologicznego, Zakopane. 2015:4.

33. Holiuk Y, Filipchuk V. The role of epiphyseal remodeling for treatment of epiphyseolisys capitis femoris. Abstracts from 12-th Congress of the European Hip

Society, Munich. 2016. Hip Int. 2016 Sep 6:26 S.75-76. DOI: 10.5301/hipint.5000450. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q2.*

34. Holiuk Y, Filipchuk V, Kabatsii M. Prophylactic pinning in epiphyseolisys capitis femoris. Abstracts from 12-th Congress of the European Hip Society, Munich. 2016. Hip Int. 2016 Sep 6:26 S.75. DOI: 10.5301/hipint.5000450. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q2.*

35. Holiuk Y, Filipchuk V, Kabatsii M, Melnyk M. Risk factors of hip luxation in cerebral palsy. Abstract book from 37-th SICOT Orthopedic World Congress, Rome. 2016:44449.

36. Rakukha A, Holiuk Y, Pshenychnyi T, Maslova T, Rudyk M, Opeida I, Potapenko M, Usok V. The effect of L-PRP and PPP on metabolic polarization of human monocytes in vitro. Abstracts from 2-nd International scientific conference “Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21-st century”, Kyiv, 2016:140-141.

37. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Кабацій МС. Мельник МВ. Прогнозування спастичного зміщення стегна у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:127.

38. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Фактори ризику рецидиву варусної деформації гомілки при хворобі Блаунта. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:142.

39. Голюк ЄЛ. Питання трансплантології в травматології та ортопедії: проблеми та шляхи їх вирішення. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:239.

40. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Ліненко ОМ. Досвід застосування методик пролотерапії при патології опорно-рухового апарату. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в

генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology. 2017;5(2):220. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 *Фахове видання, категорія Б.*

41. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Бондарєв ГГ. Застосування регенеративних ін'єкційних технік у пацієнтів ортопедо-травматологічного профілю. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology. 2017;5(2):221. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 *Фахове видання, категорія Б.*

42. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ. Наш досвід застосування цитокін-терапії при лікуванні хронічного синовіїту колінних суглобів, викликаного сталим фізичним навантаженням. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology. 2017;5(2):225. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79. *Фахове видання, категорія Б.*

43. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Бондарєв ГГ. Виробництво алогенних кісткових скаффолдів за технологією локального (госпітального) кісткового банку. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology. 2017;5(2):229. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79. *Фахове видання, категорія Б.*

44. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ, Сауленко КО. Досвід використання збагаченої тромбоцитами плазми (PRP) у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:41-45.

45. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО, Чорнобай СП. PRP-терапія в комбінації з низькомолекулярною гіалуроновою кислотою в лікуванні неускладнених розривів менісків. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:11-12.

46. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО, Бондарєв ГГ. Сучасні аспекти функціонування кісткових банків в Україні. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:45-46.

47. Марциняк СМ, Чорнобай СП, Голюк ЄЛ, Бондарєв ГГ. Наш досвід консервативного лікування дегенеративних захворювань суглобів із застосуванням технологій регенеративної медицини. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:99-103.

48. Holiuk Ye, Pschenychny T, Lyhodiy V. Platelet rich plasma for treatment of the knee meniscal lesions. Proceedings of the first Imternational Conference of European Academy of Science, Bonn. 2018:36-37.

49. Голюк ЄЛ, Магомедов СМ, Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ. Біоетичні аспекти роботи з живими донорами. Тези доповіді у матеріалах 7-го Національного конгресу з біоетики, Київ. 2019:69.

50. Голюк ЄЛ, Яворовська ВІ, Сауленко КО. Дослідження регенераторних ефектів збагаченої тромбоцитами плазми in vitro. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:158-159.

51. Чорнобай СП, Марциняк СМ, Голюк ЄЛ, Бондарєв ГГ. Застосування різних видів регенеративних технологій у високоспеціалізованій амбулаторній допомозі. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:163.

52. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО, Бондарєв ГГ. Збагачена тромбоцитами плазма в лікуванні пацієнтів з остеоартрозом колінних суглобів. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:163-164.

53. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО, Марциняк СМ, Чорнобай СП. Лікування розривів менісків за допомогою регенеративних

ін'єкційних технік. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:164.

54. Чорнобай СП, Марциняк СМ, Голюк ЄЛ, Бондарєв ГГ. Перший досвід використання регенеративних технологій у лікуванні застарілих пошкоджень плечового суглоба. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:166-167.

55. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ, Сауленко КО. Регенеративна ін'єкційна терапія в травматології та ортопедії. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:167.

56. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Мельник МВ, Лук'янова НЮ. Клініко-генеалогічне та епігенетичне обстеження пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:215.

57. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Тимочук ВВ. Перший досвід використання аллопластики у лікуванні хибних суглобів довгих кісток нижніх кінцівок. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:320.

58. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ. Використання PRP та її похідних у пацієнтів з гонартрозом. Тези доповіді в матеріалах III-го зї'зду Всеукраїнської асоціації травматології та остеосинтезу, Київ. 2020:14.

59. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО. Лікування розривів менісків за допомогою клітинної терапії. Тези доповіді в матеріалах III-го з'їзду Всеукраїнської асоціації травматології та остеосинтезу, Київ. 2020:30.

60. Lushchii OM, Holiuk YL. Our experience in the use of autologous platelet concentrates in traumatology and orthopedics. The materials of the XVIII Ukrainian Conference of Young Scientists of IMBG of NAS of Ukraine, Kyiv. 2024.

Biopolymers and Cell, 2024;40(2):161. DOI: 10.7124/bc.000AB8. *Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

61. Голюк ЄЛ. Технологія локального кісткового банку тепер доступна в Україні. Альманах, 2018. №1:48-56.

62. Габрієлян АВ, Голюк ЄЛ, Домбровський ДБ, Кирик ВМ, Медведєв ВВ, Руденко СА, Шаблій ВА. Новітні методи застосування стовбурових клітин і біоінженерних технологій у регенеративній медицині. Реф. роботи, удостоєної Національної премії ім. Бориса Патона, Київ, 2021 р. https://www.kdpu-nt.gov.ua/uk/content/novitni-metody-zastosuvannya-stovburovyh-klityn-i bioinzhenernyh-tehnologiy-u-regeneratyvniy.

63. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Таранюк ОВ, Бондарєв ГГ, Маслова ТС. Виготовлення алогенних кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку (методичні рекомендації), Київ. 2023:28 с.

64. Голюк Є.Л., Остапенко Т.А., Бездєнєжних Н.О. Спосіб приготування кісткового матриксу: пат. 115102 Україна. № u 201606126; заявл. 06.06.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

65. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА, Бездєнєжних НО. Спосіб приготування кісткового матриксу: пат. 115103 Україна. №u201606127; заявл. 06.06.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

66. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА, Бездєнєжних НО. Спосіб приготування кісткового матриксу: пат. 115104 Україна. №u201606128; заявл. 06.06.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

67. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат. 115167 Україна. №u201606190; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

68. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат 115168 Україна. №u201606191; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

69. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат 115169 Україна. №u201606192; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

70. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат. 115170 Україна. №u201606193; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

71. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат. 115171 Україна. №u201606194; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7.

72. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Мельник МВ. Спосіб визначення періоду скелетної зрілості у дітей та підлітків: пат. 137774 Україна. №u201903309; заявл. 02.04.2019; опубл. 11.11.2019, бюл. № 21.

73. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Сауленко КО, Магомедов СМ, Лущій ОМ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Поліщук ЛВ, Бездєнєжних НО, Лихова ОО. Спосіб приготування дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини: пат. 152869 Україна. №u202203813; заявл. 13.10.2022; опубл. 19.04.2023, бюл. № 16.

74. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Маслова ТС, Мельник МВ, Пшеничний ТЄ. Навігатор для проведення троакара при тунелізації проксимального відділу стегнової кістки: пат. 155438 Україна. №u2023 03958; заявл. 18.08.2023; опубл. 28.02.2024, бюл. № 9.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАК, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ.. 26
ВСТУП……. 29
РОЗДІЛ 1 Застосування регенеративних інтервенційних технологій у лікуванні остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів. Історичні аспекти та сучасний стан питання (огляд літератури)…… 45
РОЗДІЛ 2 Напрями та групи аналізу регенеративних інтервенційних технологій та результатів їх застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів. Дизайн, матеріали та методи дослідження…….. 70
2.1 Дизайн експериментального *in vitro* дослідження регенеративних властивостей мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на прикладі периферичної крові та аспірату кісткового мозку……. 71
2.1.1 Матеріали та методи для дослідження ефектів Л-ЗТП та ЗЛ-ЗТП на метаболізм моноцитів аутологічної периферичної крові людини…. 72
2.1.2 Матеріали та методи для визначення рівня TGF-β1 в збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату…… 74
2.1.3 Матеріали та методи для дослідження вмісту клітин периферичної крові в лейкоцитарній та збідненій на лейкоцити збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із патологією опорно-рухового апарату…….. 75
2.2 Дизайн дослідження для розробки критеріїв якості та безпеки мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на прикладі периферичної крові та аспірату кісткового мозку…….. 79
2.2.1 Матеріали та методи для розробки критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів з периферичної крові…….. 80

2.2.2 Матеріали та методи для розробки критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів з аутологічного аспірату кісткового мозку……. 82
2.3 Дизайн дослідження для розробки технології виготовлення скаффолдів за методикою госпітального кісткового банку……... 83
2.3.1 Матеріали та методи обстеження донорів головок стегнових кісток……. 83
2.3.2 Матеріали та методи для розробки протоколу і критеріїв якості та безпеки виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку…….. 91
2.3.3 Дослідження якісних характеристик скафолдів, виготовлених за технологією госпітального кісткового банку *in vitro*……... 92
2.4 Дизайн дослідження для розробки методології обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій…… 98
2.4.1 Матеріали та методи для розробки методології клінічного обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій……. 100
2.4.2 Матеріали та методи для розробки методології лабораторного обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій…… 101
2.4.3 Матеріали та методи інструментального обстеження пацієнтів при застосуванні регенеративних технологій та розробки критеріїв якості та безпеки введення біотехнологічних продуктів……. 104
2.5 Дизайн дослідження для розробки методології застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів……. 105

2.5.1 Матеріали та методи для дослідження скелетної зрілості, як біомаркера встановлення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів……. 105
2.5.2 Матеріали та методи для епігенетичного дослідження пацієнтів підліткового віку з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки, як фактором ризику розвитку остеоартрозу кульшового суглоба…….. 109
2.6 Дизайн дослідження для аналізу результатів застосування різних варіантів регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів…… 111
2.6.1 Аналіз результатів лікування пацієнтів з остеоартрозом кульшових та колінних суглобів в різних групах застосування регенеративних інтервенційних технологій…….. 111
2.6.2 Матеріали для аналізу результатів лікування пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшових та колінних суглобів за допомогою регенеративних інтервенційних технологій……. 119
РОЗДІЛ 3 Регенеративні ефекти біотехнологічних продуктів *in vitro* на прикладі збагаченої тромбоцитами плазми та її похідних…….. 122
3.1 Результати дослідження ефектів Л-ЗТП та ПЗТ на метаболізм моноцитів аутологічної периферичної крові людини……. 122
3.2 Результати дослідження рівня TGF-β1 в збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату…… 126
3.3 Результати дослідження вмісту клітин крові в лейкоцитарній та збідненій лейкоцитами збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із патологією опорно-рухового апарату…….. 129
РОЗДІЛ 4 Методологія виготовлення скаффолдів за технологією 136

госпітального кісткового банку……..
4.1 Методологія обстеження донорів головок стегнових кісток та оцінка результатів її застосування…… 136
4.1.1 Результати анкетування пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини……. 136
4.1.2 Результати рентгенологічного та рентгеноморфометричного обстеження при відборі потенційних донорів кісткової тканини……... 142
4.1.3 Результати відбору донорів кісткової тканини на підставі лабораторних досліджень……... 145
4.2 Методика обробки головки стегнової кістки для виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку 147
4.3 Результати *in vitro* дослідження регенеративних властивостей скаффолдів, виготовлених за технологією госпітального кісткового банку та інших варіантів скаффолдів…….. 152
РОЗДІЛ 5 Технологія та методики виготовлення мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів, критерії їх якості та безпеки на прикладі концентратів периферичної крові та аспірату кісткового мозку……. 164
5.1 Технологія забору аутологічного біоматеріалу для виготовлення мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів…….. 164
5.1.1 Процедура забору крові для виготовлення клітинних концентратів……. 164
5.1.2 Технологія забору аспірату кісткового мозку……. 166
5.1.3 Технологія забору ліпоаспірату для виділення стромально-васкулярної фракції жирової тканини……... 170
5.2 Протоколи виділення мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів для регенеративних інтервенційних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів 173
5.2.1 Виділення аутологічних концентратів периферичної крові…….. 173

5.2.2 Виділення аутологічних концентратів аспірату кісткового мозку…….. 178
5.3 Критерії якості та безпеки аутологічних біотехнологічних продуктів на прикладі концентратів периферичної крові та аспірату кісткового мозку……. 184
5.3.1 Критерії якості та безпеки ін'єкційних тромбоконцентратів периферичної крові…….. 184
5.3.2 Критерії якості та безпеки біотехнологічних продуктів аутологічного аспірату кісткового мозку…….. 200
5.3.3 Класифікація біотехнологічних продуктів та їх критеріїв якості і безпеки для регенеративного інтервенційного лікування остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів……. 212
5.4 Нові способи отримання біотехнологічних продуктів для застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів…… 214
5.4.1 Спосіб отримання дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини…… 214
5.4.2 Нові способи отримання та застосування біотехнологічних продуктів для субхондрального внутрішньокісткового введення на основі кісткового скаффолда, виготовленого за технологією госпітального кісткового банку та аутологічних клітинних концентратів……. 218
РОЗДІЛ 6 Методологія обстеження пацієнтів та застосування регенеративних інтервенційних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів……. 223
6.1 Методологія обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій…… 223

6.1.1 Критерії оцінки та інтерпретація результатів обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового і колінного суглобів за допомогою опитувальників…….. 223
6.1.2 Особливості лабораторного обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій…… 225
6.1.3 Оцінка результатів інструментального обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій…… 229
6.2 Ультразвукова навігація структур кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій……. 237
6.2.1 Ультразвукова навігація колінного суглоба при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій…… 237
6.2.2 Ультразвукова навігація кульшового суглоба при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій…… 251
6.3 Методика внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів на прикладі асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів……. 254
6.4 Методологічні засади застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів…….. 263
6.4.1 Скелетна зрілість та період статевого розвитку, як біомеркери встановлення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів…….. 263
6.4.2 Визначення епігенетичних та клініко-генеалогічних факторів ризику виникнення та прогресування остеоартрозу у дітей та підлітків.. 269
РОЗДІЛ 7 Аналіз результатів лікування, персоналізований підхід до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з 280

остаеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів
7.1 Результати клінічного застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів на прикладі ін'єкційних аутологічних концентратів периферичної крові……. 280
7.2 Результати лікування пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового та колінного суглобів……. 311
7.3 Концептуальні засади персоналізованого підходу до застосування регенеративних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів……. 323
РОЗДІЛ 8 Узагальнення та обговорення отриманих результатів дослідження 337
ВИСНОВКИ……... 359
ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ …… 364
ДОДАТОК 1 Список опублікованих праць за темою дисертації…….. 411
ДОДАТОК 2 Відомості про апробацію результатів дисертації……. 423
ДОДАТОК 3 Перелік нововведень, технологій…….. 427
ДОДАТОК 4 Україномовні версії опитувальників для оцінки якості життя пацієнтів з захворюваннями колінного та кульшового суглобів……... 430
ДОДАТОК 5 Показники аналізів крові, які визначалися під час лабораторного обстеження пацієнтів……... 447
ДОДАТОК 6 Індикатори скелетної зрілості за рентгенограмами колінного та кульшового суглобів у дітей та підлітків…… 448
ДОДАТОК 7 Перелік засобів вимірювальної техніки, які були застосовані при виконанні дисертаційної роботи……. 455

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАК, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ

bFGF – основний фактор росту фібробластів

BMP – Bone Morphogenetic Protein

HBcAb – антитіла до вірусу гепатиту В

HBsAg – поверхневий антиген вірусу гепатиту В

HCV – антитіла до вірусу гепатиту С

HD-PRP – High-Density Platelet Rich Plasma

HOOS – Hip Disability and Osteoarthritis Outcome Score

HPL – Human Platelet Lysate

IGF – Insulin-like Growth Factor

IKDC – International Knee Documentation Committee

JIS Classification – Japanese Investigation Committee Classification

KOOS – Knee Disability and Osteoarthritis Outcome Score

LP-PRP – Leukocyte Pure Platelet Rich Plasma

LR-PRP – Leukocyte Rich Platelet Rich Plasma

MFAT – Microfragmental Adipose Tissue

MMP-9 – Matrix metallopeptidase 9

OHS – Oxford Hip Score

OKS – Oxford Knee Score

PBS – фосфатно-сольовий буфер (Phosphate buffered saline)

PDT – час подвоєння клітинної популяції (population doubling time)

PPP – Platelet Pure Plasma

P-PRP – Leukocyte Pure Platelet Rich Plasma

PRF – Platelet Rich Fibrin

PRP – Platelet Rich Plasma

SVF – Stromal-Vascular Fraction

TGF-β – трансформуючий фактор росту бета (Transforming Growth Factor-beta)

TNF-α – фактор некрозу пухлини альфа (Tumor Necrosis Factor alpha)

WOMAC – Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index

АКМ ГІ – алогенний кістковий матрикс оброблений гамма-іррадіацією

АКМ ТС – алогенний кістковий матрикс оброблений термостерилізацією

АН – асептичний некроз

ВАШ – візуальна аналогова шкала болю

ВК – великогомілкова кістка

ГА – керамічний гідроксиапатит

ГК – гіалуронова кислота

ЗЛ-ЗТП – збіднена на лейкоцити збагачена тромбоцитами плазма

ЗТП – збагачена тромбоцитами плазма

ЗТ-ПЛР – зворотньотранскрипційна полімеразна ланцюгова реакція

ІЕПОР – Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького

ІЛТСАТ – індекс лейкоцитарно-тромбоцитарного співвідношення аутологічного тромбоконцентрату

ІТО НАМНУ – Інститут травматології та ортопедії Національної академії медичних наук України

кДНК – кодуюча дезоксирибонуклеїнова кислота

Л-ЗТП – лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма

ЛІАТ – лейкоцитарний індекс аутологічного тромбоконцентрату

ЛФК – лікувальна фізкультура

МЗ – медіальна зв’язка

мікроРНК – мікрорибонуклеїнова кислота

МСК – мезенхімальні стовбурові клітини

ММСК – мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини

мРНК – матрична рибонуклеїнова кислота

МРТ – магнітно-резонансна томографія

НАМН – Національна академія медичних наук

НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати

ОА – остеоартроз

ПЗТ – плазма, збіднена на тромбоцити

РД – розчин декстрози

РІТ – регенеративні інтервенційні технології

РФК – реактивні форми кисню

ТІАТ – тромбоцитарний індекс аутологічного тромбоконцентрату

ТКФ - трикальційфосфат

УЗД – ультразвукове дослідження

ФІ – фагоцитарний індекс

ФСБ – фосфатно-сольовий буфер

ФЧ – фагоцитарне число

ЮЕГСК – юнацький епіфізеоліз головки стегнової кістки

ВСТУП

Ортопедія та травматологія – це та спеціальність медицини, де поняття регенерації набуває особливого значення, так як будь-які дії ортопеда-травматолога є скерованими саме на досягнення цього ефекту. І якщо технології регенерації при лікуванні переломів стали успішними за рахунок застосування стабільно-функціонального остеосинтезу, то в ортопедичній артрології регенерація поступилася своїм місцем ендопротезуванню суглобів.

Регенеративна медицина – один з «наймолодших» напрямків лікарської справи. Вперше цей термін було застосовано в науковій статті «Майбутнє багатопрофільних систем», опублікованої професором-хірургом Ларрі Р. Кайзером в 1992 році, але за короткий час напрямок отримав стрімкий розвиток, а методики все частіше застосовуються в різних спеціальностях.

Ортопедія та травматологія – не виключення, більше того успіх застосування регенеративних методик у лікуванні патології опорно-рухового апарату останнім часом є значним.

Регенеративні технології в ортопедії та травматології набувають все більшої актуальності завдяки інтенсивному розвитку реконструктивних та малоінвазивних методик оперативного лікування – артроскопічних втручань, корекційних остеотомій, а також кількості ревізійних ендопротезувань, що постійно зростає. Вказані методики в багатьох випадках потребують спільного застосування та доповнюють одне одного. Регенеративні технології застосовуються при лікуванні кісткових дефектів, дефектів суглобового хряща, пошкоджень та захворювань м’яких тканин.

Всі успіхи хірургів-ортопедів є не більш, ніж відображення дивовижної здатності організму до самовідновлення. В той же час, здатність тканин до фізіологічної та репаративної регенерації поки що не завжди призводить до повного відновлення структури та функції ушкоджених органів опорно-рухової системи [1].

Регенеративна ортопедія (син. ортобіологія, інтервенційна ортопедія) – напрямок ортопедії, методики якого спрямовані на посилення та відновлення пошкоджених зв'язок, сухожилків, суглобового хряща, усунення нестабільності суглобів, шляхом ініціювання та регуляції каскаду регенеративних реакцій організму, а саме, реплікації клітин та стимуляції ангіогенезу [2].

Концепція регенеративної ортопедії полягає в її альтернативі оперативним втручанням. Відомі кілька її напрямків. Найдавнішим є пролотерапія, яка полягає у введенні стимулюючих речовин в місце ушкодження [3-5], найбільш розповсюдженими є інтервенційні методики з застосуванням мінімально маніпульованих клітинних концентратів периферичної крові та кісткового мозку [6-10], а останнім часом все ширше застосовуються препарати культивованих стовбурових клітин, зокрема мезенхімальних, виділених з кісткового мозку [11-16].

Регенеративна ін'єкційна терапія (синоніми – ортобіологія, пролотерапія) вважається новітнім напрямком ортопедії, який полягає у використанні клітинних технологій та нових матеріалів для забезпечення репаративної або фізіологічної регенерації при різних захворюваннях та пошкодженнях опорно-рухового апарату [17].

Клінічна ефективність засобів регенеративної медицини та широкі можливості застосування викликають інтерес у практикуючих лікарів, сприяючи її активному впровадженню в повсякденну практику. Разом з тим, необхідність фундаментальних знань та розуміння ключових процесів в медицині, фізіології та процесах регенерації, недостатня кількість досліджень, в тому числі і вітчизняних авторів, роблять регенеративні методики вразливими щодо відповідності принципам доказової медицини та часто компрометують їх застосування.

Саме тому регенеративні технології потребують глибокого вивчення та аналізу результатів лікування з їх допомогою, а біотехнологічні продукти – визначення критеріїв якості та безпеки, а також розробки персоналізованого підходу до їх застосування.

Зв'язок роботи з науковими програмами. Дослідження проведені в межах виконання планових науково-дослідних робіт відділу реконструктивної ортопедії та травматології дитячого та юнацького віку і науково-практичного центру регенеративної ортопедії та інноваційних біомедичних технологій ДУ «Національний інститут травматології та ортопедії НАМН України»: «Розробити заходи з лікування та профілактики синдрому фемороацетабулярного конфлікту у дітей та підлітків» (№ держреєстрації 0111U001988), «Розробити систему профілактики та лікування розладів формування кульшового суглоба у дітей та підлітків зі спастичною формою дитячого церебрального паралічу» (№ держреєстрації 0114U003011), «Розробити систему прогнозування виникнення та перебігу і лікування юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки» (№ держреєстрації 0117U003014), «Розробити нові технології корекції осьових деформацій ділянки колінного суглоба у пацієнтів ріст яких триває» (№ держреєстрації 0119U003161), «Розробити та експериментально дослідити регенеративні технології при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів» (№ держреєстрації 0122U000200), у якій здобувач був відповідальним виконавцем.

Окремі результати, наведені в дисертації, увійшли до роботи «Новітні методи застосування стовбурових клітин і біоінженерних технологій у регенеративній медицині», удостоєної Національної премії України ім. Бориса Патона за 2021 рік.

Мета роботи - розробити персоналізований підхід до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів шляхом вдосконалення методології їх обстеження, визначення критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів та аналізу результатів їх клінічного впровадження.

З**авдання**, які необхідно було вирішити в роботі для досягнення поставленої мети наступні:

1. Експериментально дослідити регенеративні ефекти аутологічних мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів *in vitro* на прикладі концентратів периферичної крові людини.
2. Розробити методологію обстеження донорів кісткової тканини для виготовлення скаффолдів.
3. Розробити методологію виготовлення кісткових скаффолдів для отримання біотехнологічних продуктів для регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.
4. Дослідити в експерименті *in vitro* регенеративні властивості кісткових скаффолдів, отриманих за технологією госпітального кісткового банку.
5. Розробити критерії якості та безпеки аутологічних концентратів периферичної крові.
6. Розробити класифікацію мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів з периферичної крові.
7. Розробити критерії якості та безпеки мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів з аспірату кісткового мозку та жирової тканини, встановити оптимальний варіант для клінічного застосування.
8. Розробити нові біотехнологічні продукти, способи їх отримання та застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.
9. Розробити методологію обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій.
10. Розробити методику ультразвукової навігації при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.
11. Покращити методику внутрішньокісткового введення біотехнологічних

продуктів у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

12. Розробити методологічні засади застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів.

13. Розробити критерії якості та безпеки клінічного застосування регенеративних інтервенційних технологій.

14. Розробити класифікацію біотехнологічних продуктів для регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, критеріїв їх якості та безпеки.

15. Проаналізувати результати застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів.

16. Провести порівняльний аналіз результатів застосування регенеративних інтервенційних технологій та інших методів лікування у пацієнтів з остеоартрозом.

17. Проаналізувати результати застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового та колінного суглобів.

18. Розробити персоналізований підхід до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

Об‘єкт дослідження - біотехнологічні продукти з аутологічної периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини, алогенні кісткові скаффолди, регенеративні інтервенційні технології зі застосуванням зазначених продуктів.

Предмет дослідження – біологічні та терапевтичні ефекти біотехнологічних продуктів та регенеративних інтервенційних технологій в експерименті *in vitro* та при клінічному застосуванні.

Методи дослідження. Використовували в роботі наступні методи дослідження: загальноклінічний, лабораторний, мікробіологічний, інструментальні (рентгенологічний, ультразвуковий, магнітно-резонансна томографія), рентгенморфометричний, культуральний, статистичний.

Для *in vitro* дослідження характеристик біотехнологічних продуктів використовували наступні лабораторні методи: проточну цитофлюориметрію для оцінки продукції внутрішньоклітиних реактивних форм кисню моноцитами периферичної крові та оцінки їх фагоцитарної активності, спектрофотометричний метод для оцінки продукції NO та аргіназної активності моноцитів периферичної крові, імуноферментний аналіз для дослідження вмісту TGF-β1, для дослідження експресії панелі мікроРНК у сироватці крові застосовували метод зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. Для дослідження регенеративних характеристик кісткових скаффолдів, а саме оцінки життєздатності клітин, використовували культуральний метод. Також використовували даний метод для розробки критеріїв якості та безпеки мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів з аутологічного аспірату кісткового мозку. Імуноцитохімічний аналіз застосовували для визначення проліферативної активності клітин при їх співкультивуванні із скаффолдами. Загальний аналіз крові проводили для обстеження пацієнта та оцінки характеристик клітинних концентратів периферичної крові людини, мієлограму – для розробки критеріїв якості та безпеки мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів з аутологічного аспірату кісткового мозку. Серологічне дослідження крові (імунохроматографічний метод) використовували у пацієнтів – потенційних донорів кісткової тканини для дослідження на наявність інфекцій.

Рентгенморфометричне дослідження використовували при виборі донорів головок стегнових кісток для виготовлення скаффолдів та для оцінки скелетної зрілості у пацієнтів дитячого та підліткового віку.

Клінічне обстеження, анкетування за допомогою опитувальників якості життя та інструментальні методи дослідження (рентгенологічний,

ультразвуковий, магнітно-резонансна томографія) використовували для діагностики, моніторингу перебігу та оцінки результатів лікування пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням методів описової та варіаційної статистики з визначенням M±m. Статистично достовірними вважали відмінності за умов $p \leq 0,05$.

Наукова новизна отриманих результатів:

Вперше встановлено, що обробка моноцитів аутологічними препаратами Л-ЗТП (лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма) і ПЗТ (плазма збіднена на тромбоцити) спричиняє їх протизапальну прорегенеративну метаболічну поляризацію ($p<0,05$).

Вперше при дослідженні аутологічних тромбоконцентратів отримано такі результати: не виявлено статистично достовірної різниці між рівнем TGF-β1 у збагаченій тромбоцитами плазмі між різними статями ($p=0,04$), не встановлено залежності за вмістом TGF-β1 у збагаченій тромбоцитами плазмі від віку пацієнтів ($p>0,008$), відсутня достовірна різниця вмісту тромбоцитів у виготовлених препаратах від пацієнтів з підвищеним (понад $200 \cdot 10^6$ клітин/мл) та низьким (до $200 \cdot 10^6$ клітин/мл) первинним вмістом тромбоцитів у цільній крові.

Вперше деталізовано класифікацію аутологічних тромбоконцентратів за такими параметрами: концентрацією тромбоцитів, співвідношенням тромбоцити/лейкоцити, візуалізаційними характеристиками, а також критерії якості та безпеки клітинних форм аутологічних тромбоконцентратів: тромбоцитарний індекс аутологічного тромбоконцентрату (співвідношення початкової концентрації тромбоцитів у первинному аналізі крові пацієнта та концентрації тромбоцитів у біотехнологічному продукті), лейкоцитарний індекс аутологічного тромбоконцентрату (співвідношення початкової концентрації лейкоцитів у первинному аналізі крові пацієнта та концентрації

тромбоцитів у біотехнологічному продукті), індекс лейкоцитарно-тромбоцитарного співвідношення аутологічного тромбоконцентрату (концентрації лейкоцитів та тромбоцитів у біотехнологічному продукті).

Вперше розроблено критерії якості та безпеки маломаніпульованих біотехнологічних продуктів з аспірату кісткового мозку та встановлено 3 варіанти аспірату: тип 1 – поліморфний (з наявністю клітин-попередників усіх типів в межах норми), тип 2 – помірноклітинний (з наявністю усіх типів клітин-попередників, але деякі з них нижче за норму), тип 3 – гіпоклітинний (з наявністю більшості типів клітин-попередників, деякі з них нижче за норму).

Вперше за результатами порівняльної оцінки впливу різних варіантів скаффолдів на життєздатність нормальних фібробластів людини встановлено, що найменш виражену антипроліферативну дію спричиняють скаффолди, створені на основі алогенного кісткового матриксу за технологією госпітального кісткового банку.

Вперше встановлено, що збагачена тромбоцитами плазма (ЗТП) покращує виживаність фібробластів і підвищує їх проліферативну активність, а модифікація 70% етиловим спиртом скаффолду із алогенного кісткового матриксу термічно обробленого за технологією госпітального кісткового банку підвищує його біосумісність по відношенню до фібробластів людини Деліпідизація такого скаффолду в комплексі із ЗТП забезпечувала підвищення остеоіндуктивних властивостей матриксу, що може супроводжуватись покращенням їх регенеративних властивостей і пролонгацією отриманих терапевтичних ефектів.

Вперше за результатами визначення скелетної зрілості та епігенетичного дослідження, а саме мікроРНК 21, встановлено, що виникнення захворювань кульшового та колінного суглобів у пацієнтів дитячого та підліткового віку в період індукції пубертату є найкритичнішим з точки зору подальшого виникнення та прогресування остеоартрозу, тому застосування регенеративних інтервенційних технологій є доцільним уже в цьому періоді.

Вперше за результатами аналізу виготовлення та застосування

бітехнологічних продуктів у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів розробили їх критерії якості та безпеки та встановили такі групи: лабораторні, до яких віднесли морфологічні (характеристика клітинного складу біотехнологічного продукту), морфогенетичні (характеризують білковий та цитокіновий склад), епігенетичні (характеризують фактори, які можуть вплинути на епігенетичні механізми регуляції), проліферативні або культуральні (характеризують потенціал клітинних компонентів продукту до росту та культивування), мікробіологічні (характеризують ризики інфекційного ураження продукту), візуалізаційні (візуальні характеристики продукту) та клінічні, які ми розділили на дві категорії: якість та безпека застосування продукту (побічні дії і ускладнення), якість та безпека введення продукту (сюди віднесли ультразвукову та рентгенологічну навігацію).

Практичне значення отриманих результатів.

Розроблено методологію відбору донорів кісткової тканини та методику виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку. Розроблено методики та технології забору, обробки та зберігання аутологічного біоматеріалу (периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини), способи виготовлення з них біотехнологічних продуктів для застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів. Розроблено нові біотехнологічні продукти: аутологічний дозований концентрат тромбоцитів, який забезпечує рівномірний регенеративний ефект під час лікування, та комбінований біотехнологічний продукт для внутрішньокісткового введення на основі спеціально обробленого алогенного кісткового скаффолда та гіперконцентрованої збагаченої тромбоцитами плазми. Розроблено спосіб лікування остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів за допомогою внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів на основі алогенних кісткових скаффолдів та аутологічних концентратів периферичної

крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини. Розроблено навігатор для оптимізації внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів пацієнтам з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів. Розроблено ультразвукові доступи до структур колінного та кульшового суглобів для регенеративних інтервенційних процедур у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом. Розроблено методологію обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій. Розроблено методологію застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку зі захворюваннями кульшового та колінного суглобів. На підставі аналізу клінічних результатів розроблено персоналізований підхід до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

Результати роботи впроваджено у практику в науково-практичному центрі регенеративної ортопедії та інноваційних біомедичних технологій, відділі мікрохірургії та реконструктивно-відновної хірургії верхньої кінцівки, відділі реконструктивної ортопедії та травматології дитячого та юнацького віку ДУ «Національний інститут травматології та ортопедії НАМН України», ортопедичному відділенні КНП «Київська міська клінічна лікарня №12» та КНП «Дрогобицька міська лікарня №1» Дрогобицької міської ради.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною завершеною науковою працею автора. Робота виконана в науково-практичному центрі регенеративної ортопедії та інноваційних біомедичних технологій та відділі реконструктивної ортопедії та травматології дитячого та юнацького віку ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України». Автором особисто обрано і обґрунтовано ідею, тематику та дизайн дисертаційної роботи, проведено аналіз літературних джерел відповідно до сучасних уявлень про застосування регенеративних технологій в ортопедичній практиці, зокрема при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів,

сформульовано мету, основні завдання роботи, необхідний обсяг експериментальних досліджень.

Дисертант самостійно розробив основні положення методології обстеження пацієнтів, методики забору біологічного матеріалу для виготовлення біотехнологічних продуктів, протоколи їх виготовлення та критерії якості й безпеки, провів аналіз даних клінічних спостережень та клініко-інструментальних досліджень. Автор брав безпосередню участь у плануванні лікувальної тактики й інтервенцій пацієнтам усіх груп спостереження. Переважна кількість пацієнтів основних груп проліковані дисертантом особисто. За участю співавторів проведено діагностичні процедури, дослідження, розрахунки, експерименти, результати яких відображені в спільних публікаціях.

За результатами досліджень автором визначено основні положення наукової новизни дисертаційної роботи, її теоретичне та практичне значення для фундаментальної науки та клінічної практики. Експериментальні дослідження, методологічні та концептуальні засади застосування регенеративних інтервенційних технологій, нові методики та технології отримання біотехнологічних продуктів та їх застосування були проведені та розроблені спільно зі співавторами опублікованих робіт.

Експериментальне дослідження *in vitro* ефектів тромбоконцентратів на метаболізм моноцитів аутологічної периферичної крові людини проводили спільно зі співробітниками кафедри мікробіології та імунології ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ ім. Т.Г. Шевченка (зав. кафедрою докт. біол. наук, професор Л.М. Сківка), експериментальне дослідження визначення рівня TGF-β1 у збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату та дослідження якісних характеристик скаффолдів, виготовлених за технологією госпітального кісткового банку *in vitro* проводили спільно зі співробітниками відділу моніторингу пухлинного процесу та дизайну терапії Інституту експериментальної патології онкології та

радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України (докт. біол. наук, ст. досл. Н.О. Бездєнєжних та канд. біол. наук, ст. досл. О.О. Лихова), а дослідження мікроРНК зі завідувачкою лабораторії механізмів медикаментозної резистентності того ж інституту докт. біол. наук, проф. Н.Ю. Лук'яновою. Дослідження вмісту клітин крові в лейкоцитвмісній та збідненій лейкоцитами плазмі з концентратом тромбоцитів у пацієнтів із патологією опорно-рухового апарату проводилося зі співробітниками лабораторії біохімії сполучної тканини та клінічних аналізів ДУ «ІТО НАМН України» (завідувач докт. біол. наук, проф. О.М. Магомедов). Аналіз мієлограм проводився спільно зі співробітницею ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України» канд. мед. наук Г.С. Стародуб. Розробка ультразвукових доступів до кульшового та колінного суглобів проводилася спільно зі завідувачкою відділу функціональної діагностики ДУ «ІТО НАМН України», докт. мед. наук О.Г. Гайко та завідувачкою відділенням функціональної діагностики, докт. філософії Л.І. Климчук; дослідження критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів з аспірату кісткового мозку проводилося спільно зі співробітниками Інституту генетичної та регенеративної медицини ННЦ «Інститут кардіології, клінічної та регенеративної медицини імені М.Д. Стражеска»: завідувачем лабораторії клітинних та тканинних культур, докт. мед. наук, ст. наук. співроб. В.М. Кириком та канд. біол. наук, ст. наук. співроб. Д.О. Зубовим. Методологічні засади застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку розроблено спільно зі завідувачем відділом реконструктивної ортопедії та травматології дитячого та юнацького віку ДУ «ІТО НАМН України», докт. мед. наук В.В. Філіпчуком. Методику виготовлення скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку розроблено спільно з акад. НАМН України, докт. мед. наук, проф. Г.В. Гайком та завідувачем відділу захворювань суглобів у дорослих ДУ «ІТО НАМН України», докт. мед. наук, проф. С.І. Герасименком.

Спільно з член-кореспондентом НАМН України, докт. мед. наук, проф. С.С. Страфуном було розроблено класифікації біотехнологічних продуктів та

концептуальні засади персоналізованого підходу до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

Апробація результатів дисертації.

Загальна кількість доповідей – 37.

Основні результати дисертаційного дослідження були оприлюднені на:

- XVI з'їзд ортопедів-травматологів України (Харків, 2013);
- засіданнях Вченої ради ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» (2015-2024);
- Міжнародна конференція «Актуальні питання сучасної пластичної хірургії, естетичної медицини та дерматології» (Одеса, 2015);
- XXV Sympozium Sekcji Ortopedii Dzeciecei Polskiego Towarzystwa Ortopedycznego I Traumatologicznego (Zakopane, Poland, 2015);
- The 2-nd MEPOS Annual Meeting (Dubai, UAE, 2015);
- 37-th SICOT Orthopedic World Congress (Rome, Italy, 2016);
- 12-th Congress of the European Hip Society (Munich, Germany, 2016);
- XVII з'їзд ортопедів-травматологів України (Київ, 2016);
- 2-nd International scientific conference “Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21-st century” (Київ, 2016);
- Innovative technology in medicine our experience of Poland and Ukraine (Lublin, Poland, 2017);
- Міжнародна науково-практична конференція «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» (Львів, 2017);
- Міжнародна конференція «Регенеративні технології в сучасній медицині» (Одеса, 2017);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині» (Київ, 2017);
- VI Міжнародний медичний конгрес (Київ, 2017);
- IX Міжнародний медичний форум «Інновації в медицині – здоров'я нації»

(Київ, 2017);

- Orthopedic and Traumatology Eastern Convention (Poznan, Poland, 2018);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології» (Одеса, 2018);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання трансплантації органів та тканин» (Запоріжжя, 2018);
- XVIII з'їзд ортопедів-травматологів України (Івано-Франківськ, 2019);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання травматології та остеосинтезу» (Вінниця, 2019);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики» (Київ, 2019);
- Виступ в рамках офіційного візиту делегації НАМН України в КНР (Шеньчжень, 2019);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Регенеративні технології в травматології та ортопедії» (Київ, 2021);
- VIII Національний конгрес ревматологів України з міжнародною участю (Київ, 2021);
- Симпозіум з міжнародною участю «Сучасні технології медичного матеріалознавства і ортобіології» (Київ, 2022);
- Наукові читання імені професора Є.Т. Скляренка «Впровадження наукових розробок в практику охорони здоров'я» (Київ, 2022);
- Виступ на Президії НАН України (Київ, 2022);
- Симпозіум з міжнародною участю «Сучасні технології медичного матеріалознавства і ортобіології» (Київ, 2023);
- Наукові читання імені професора Є.Т. Скляренка «Впровадження наукових розробок в практику охорони здоров'я» (Київ, 2023);
- Науково-практична конференція «Сучасні регенеративні технології в лікуванні травм та захворювань опорно-рухового апарату» (Київ, 2023);
- Перша фахова школа з регенеративної ортопедії (Східниця, 2023);

- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання хірургії верхньої кінцівки» (Яремче, 2024);
- SCAR Conference 3.0 (Київ, 2024);
- Науково-практична конференція з міжнародною участю «Нейроортопедія нижньої кінцівки у дітей. Погляд невролога та ортопеда» (Чернівці, 2024);
- Симпозіум з міжнародною участю «Сучасні технології медичного матеріалознавства і ортобіології» (Київ, 2025).

Публікації. Результати проведених досліджень за темою дисертації висвітлено у 74 друкованих роботах, з яких 16 статей у наукових фахових виданнях України, 11 статей у виданнях, що входять до наукометричної бази Scopus (8 статей – у виданнях Q4, 3 статті – у виданнях Q3). Опубліковано 34 тези доповідей, отримано 11 деклараційних патентів України, здійснено 29 усних та 8 стендових доповідей, зроблено 2 нововведення, отримано 2 акти впровадження, опубліковано методичні рекомендації, зареєстровано 2 технології.

Структура і обсяг дисертації.

Дисертація викладена українською мовою і складається зі вступу, 8 розділів, висновків, списку використаних джерел, 7 додатків. У розділі 1 висвітлено актуальність та проведено огляд літератури з досліджуваної проблеми. У розділі 2 представлено напрями та групи аналізу регенеративних інтервенційних технологій та результатів їх застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, а також дизайн і матеріали та методи дослідження. Розділ 3 присвячений експериментальному *in vitro* дослідженню регенеративних ефектів та характеристик біотехнологічних продуктів. У розділі 4 представлено методологію виготовлення скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку. Розділ 5 присвячений розробці технологій та методик виготовлення маломаніпульованих аутологічних біотехнологічних продуктів з периферичної

крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини, критеріїв їх якості та безпеки. У розділі 6 представлено методологію обстеження пацієнтів та застосування регенеративних інтервенційних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів, а також засади застосування регенеративних інтервенційних технологій у дітей та підлітків з захворюваннями кульшового та колінного суглобів. У розділі 7 представлено аналіз результатів та концептуальні засади застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового й колінного суглобів. Розділ 8 присвячений узагальненню та обговоренню результатів дослідження.

Загальний обсяг дисертації складає 456 сторінок друкованого тексту, зокрема 327 сторінок основного тексту, 38 таблиць і 189 рисунків. Список використаних джерел містить 402 посилання.

РОЗДІЛ 1
ЗАСТОСУВАННЯ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ІНТЕРВЕНЦІЙНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ЛІКУВАННІ ОСТЕОАРТРОЗУ ТА АСЕПТИЧНОГО НЕКРОЗУ КУЛЬШОВОГО ТА КОЛІННОГО СУГЛОБІВ. ІСТОРИЧНІ АСПЕКТИ ТА СУЧАСНИЙ СТАН ПИТАННЯ (огляд літератури)

При опрацюванні літератури користувалися базою PubMed та соціальною мережею для вчених ResearchGate.

Регенеративна ортопедія вважається досить «молодим» та інноваційним напрямком, її історія бере свій відлік з початку минулого сторіччя. Так, в 1905 році німецький хірург відомого лікарняного комплексу «Charite» (Берлін, Німеччина) Август Бір, який був одним з основоположників німецької хірургії, вперше описав вдале застосування аутогемотерапії у пацієнта з переломом, який не зростався [18]. Цей метод справедливо можна вважати прототипом сучасних регенеративних технологій.

Наступним еволюційним кроком впровадження регенеративних технологій слід вважати методику пролотерапії (синоніми склерозуюча терапія, тканинна терапія). Вперше ін'єкції гіпертонічного розчину декстрози були застосовані американським хірургом та остеопатом Earl Gedney у 1923 році для лікування абдомінальних гриж, а у 1930 році метод був визнаний Американською асоціацією остеопатів та герніологів офіційним для лікування даної патології. Надалі методику почали успішно застосовувати для безопераційного лікування захворювань суглобів, зв’язок та сухожилків [19].

У 1933 році В.П. Філатов, який заснував та був першим директором Інституту очних хвороб та тканинної терапії (м. Одеса), вперше застосував тканинну терапію в офтальмології, а у 1936 році вийшла його монографія “Тканинна терапія”. Згодом він почав застосовувати методики тканинної терапії і в інших спеціальностях, в тому числі для загоєння ран та зрощування переломів. У 1940 році В.П. Філатов почав застосовувати для тканинної терапії

препарати рослинного походження (екстракт алое, ФІБС). За його припущенням вплив цих препаратів призводить до утворення в ушкоджених тканинах речовин, які мають виражену біологічну активність. За пропозицією автора ці речовини були названі “факторами супротиву” або “біогенними стимуляторами” [20].

Фундаторами сучасної пролотерапії в ортопедії та травматології з використанням декстрози та інших стимулюючих розчинів є американські ортопеди-травматологи George Hacket та Gustav Hemwall, які працювали у період з 1940 по 1950 роки. Вони розробили перші протоколи реґіонарної пролотерпії при патології опорно-рухового апарату [19].

У 1986 році італійська нейробіолог Ріта-Леві Монтальчіні відкрила “фактори росту”, за що була удостоєна Нобелівської премії [21]. З цієї визначної події почалася сучасна епоха регенеративної ін’єкційної терапії, як методу лікування.

У 1987 році вийшла перша публікація італійських авторів про застосування збагаченої тромбоцитами плазми в кардіохірургії (ЗТП) (*англ.* PRP – Platelet-Rich Plasma) [22].

У 1990 році в літературі вперше згадано про успішне застосування збагаченої тромбоцитами плазми для лікування патології опорно-рухового апарату, а саме тендинітів та тендинопатій [23].

В даний час ЗТП стала найбільш відомим біотехнологічним продуктом та використовується лікарями в багатьох спеціальностях, зокрема в стоматології, щелепно-лицевій хірургії, вертебрології, ортопедії та травматології, загальній хірургії для лікування хронічних ран, тощо.

Під плазмою, збагаченою тромбоцитами сьогодні розуміють аутологічну плазму пацієнта, в якій концентрація тромбоцитів збільшена у кілька разів порівняно з показниками периферичної крові шляхом етапного центрифугування. Якщо концентрації тромбоцитів практикуючими лікарями приділяється достатньо уваги, то роль інших клітин, зокрема лейкоцитів, як складового компоненту ЗТП, у багатьох випадках залишається поза увагою. У

той же час доведено, що лейкоцити здатні виділяти велику кількість прозапальних цитокінів, ензимів (інтерлейкін IL-1β, металопротеїназа MMP-9, фактор некрозу пухлини TNF-α та ін.), що можуть викликати посилення катаболізму позаклітинного матриксу та гальмування процесів регенерації [24-25].

Тому останнім часом почали виділяти окремий продукт – лейкоцитарну збагачену тромбоцитами плазму (Л-ЗТП) (leukocyte-rich platelet-rich plasma, LR-PRP). Під цим продуктом мають на увазі аутологічну плазму з підвищеною, порівняно з початковими значеннями, концентрацією тромбоцитів (понад 1 млн. в 1 мкл) та лейкоцитів. І навпаки, малолейкоцитарна плазма, збагачена тромбоцитами (МЛ-ЗТП) (leukocyte- poor platelet-rich plasma, LP-PRP) – це збагачена тромбоцитами плазма з мінімальним вмістом лейкоцитів [26-28].

Утворення лейкоцитарно-тромбоцитарних комплексів відіграє важливу роль у патогенезі захворювань, пов'язаних з системним запальними процесами. Підвищена концентрація лейкоцитарно-тромбоцитарних комплексів зустрічається у хворих на ішемію мозку [29] при гострому коронарному синдромі [30-32], ішемічному інсульті [29, 32], у пацієнтів інфікованих ВІЛ-1 [33], системному червоному вовчаку та ревматоїдному артриті [34]. Вважається, що збагачена тромбоцитами плазма ініціює фізіологічний каскад реакцій, які стимулюють регенерацію за рахунок цитокінів, факторів росту, які знаходяться в альфа-гранулах тромбоцитів.

Останні досягнення у галузі біотехнології та регенеративної медицини значно розширили спектр застосування біотехнологічних продуктів, зокрема в травматології та ортопедії. Наразі джерелом клітинних і тканинних продуктів для лікування захворювань та травм опорно-рухового апарату є жирова тканина та кістковий мозок, так як вважається, що вони є одними з найбільш доступних локалізацій мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин (ММСК) у дорослому організмі [35-40], тому обговорення перспектив та ефективності використання біотехнологічних продуктів, отриманих з них для лікування

остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів є досить актуальним питанням. Дедалі більш поширеним стає застосування культивованих ММСК, виділених з зазначених джерел.

Остеоартроз – дегенеративне захворювання суглобів з руйнуванням суглобового хряща, гіпертрофією та запаленням субхондральної кістки. В Україні остеоартроз (ОА) є найпоширенішим захворюванням суглобів. За даними державної статистичної звітності, у 2014 році поширеність ОА становила 3140 на 10 тис. населення, захворюваність – 460 на 100 тис. населення. Ця патологія є провідною причиною болю в суглобах, що призводить до значного погіршення якості життя та інвалідизації людей не лише похилого, а й працездатного віку. Як найпоширеніша форма ураження суглобів, остеоартроз обумовлює суттєві медичні та соціальні витрати у всьому світі [41].

Етіологія остеоартрозу до цього часу не визначена, проте щодо патогенезу, то останні дані свідчать про ключову роль остеохондрального переходу у виникненні та прогресуванні захворювання. Так, зміна фаз перевантаження та відновлення остеохондрального переходу призводить до мікророзривів у фазі відновлення в зв'язку з резорбцією. Резорбційні канали проникають у хрящ. Відбувається локальна втрата хряща, внаслідок чого з'являються тріщини хряща та субхондральної кістки. Тріщини в свою чергу заповнюються мінералами високої щільності, після чого відбувається їх екструзія у гіаліновий хрящ та утворення остеофітів [42]. Схема даного процесу представлена на рис. 1.1.

Рисунок 1.1 – Схематичне зображення патологічних змін остеохондрального переходу при остеоартрозі

Відомі сьогодні засоби для лікування остеоартрозу спрямовані, насамперед, на зменшення больового синдрому, пригнічення запалення та покращення структури і трофіки хряща. Неоперативними методами лікування остеоартрозу є розвантаження або фіксація суглоба, фізичні методи лікування, прийом пероральних анальгетиків, місцеве застосування протизапальних препаратів через шкіру або шляхом внутрішньосуглобових ін'єкцій.

Місцеві анестетики мають побічні ефекти і можуть бути ефективними лише протягом кількох годин. Сучасні нестероїдні протизапальні засоби та наркотичні анальгетики можуть забезпечити значне полегшення болю протягом 24 годин, але також мають певні протипоказання або викликають звикання. Кортикостероїди застосовують тривалими курсами по кілька тижнів або

місяців, що може спричинити ряд ускладнень, таких як системна гіперглікемія, септичний артрит та деструкція суглобового хряща. Широко застосовують препарати гіалуронової кислоти, яка є природним компонентом синовіальної рідини, але її ефективність щодо аналгезії суперечлива.

Оперативні втручання, рекомендовані у пацієнтів з остеоартрозом також не передбачають регенерацію тканин опорно-рухового апарату [43] (рис. 1.2).

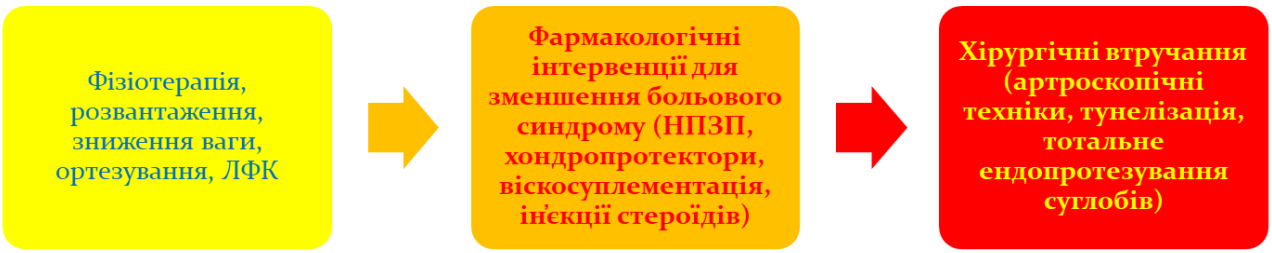


Рисунок 1.2 – Схематичне зображення офіційних рекомендацій щодо лікування остеоартрозу та асептичного некрозу залежно від тяжкості захворювання

Саме тому розробка та впровадження новітніх ефективних технологій лікування та профілактики прогресування остеоартрозу є актуальним завданням сучасної ортопедії.

Регенерація хряща залишається складною проблемою, оскільки він не містить кровоносних та лімфатичних судин, а також нервів, що ускладнює трофіку хондроцитів та міграцію ендогенних прогеніторних клітин. Тому існуючі на сьогодні медикаментозні, фізіотерапевтичні та хірургічні методи не можуть в повному обсязі забезпечити відновлення структури та функцій суглобового хряща. Подальше прогресування дегенеративних змін в ньому та субхондральній кістці призводить до їх руйнування та суттєвого порушення функцій кінцівок. У підсумку виникає необхідність в ендопротезуванні суглоба, яке є досить інвазивною та дороговартісною процедурою.

Крім того, слід розуміти, що остеоартроз – це не лише захворювання суглобового хряща, але і навколишніх м'яких тканин та субхондральної кістки [44] (рис. 1.3).

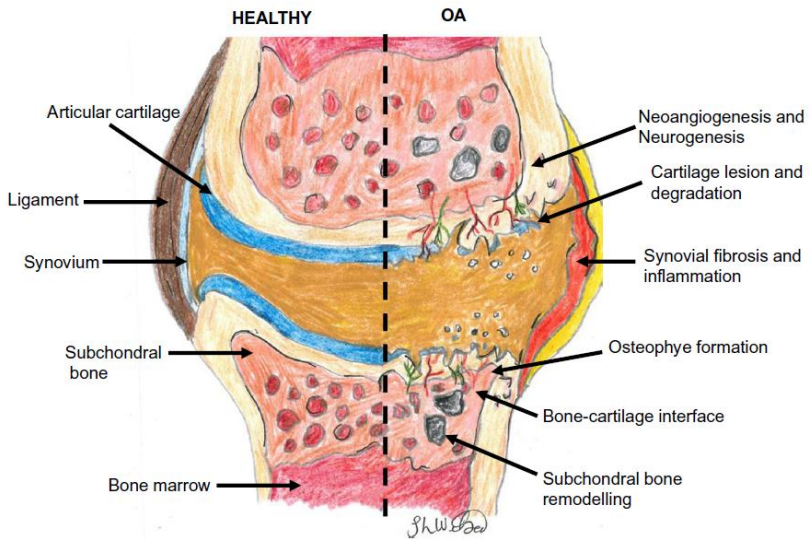


Рисунок 1.3 – Схематичне зображення ураження структур колінного суглоба при остеоартрозі [44]

При визначенні тактики лікування остеоартрозу варто враховувати можливість терапевтичного впливу на всі ушкоджені компоненти суглоба та забезпечення його трофіки задля максимального відновлення тканин та усунення запалення [45] (рис. 1.4).

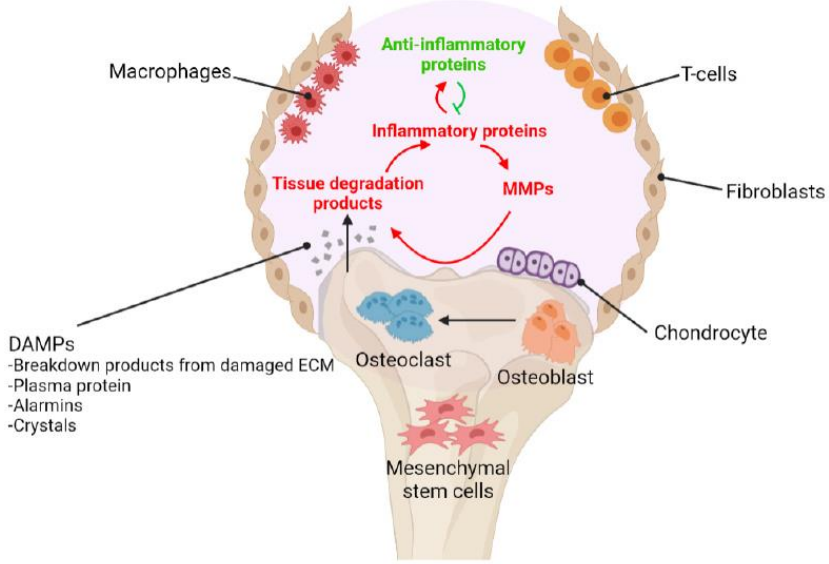


Рисунок 1.4 – Схематичне зображення клітинних компонентів запалення в колінному суглобі при остеоартрозі [45]

Стосовно асептичного некрозу (АН), його частота та поширеність у більшості країн вивчені недостатньо. За даними різних авторів, він зустрічається у 1,4-4,7% пацієнтів з патологією кульшового суглоба. У Сполучених Штатах щорічно реєструється близько 15000 нових випадків АН, понад 10% від загальної кількості ендопротезувань кульшового суглоба спричинені його наслідками. В Японії щороку діагностується 2500–3300 випадків АН стегна, з них 34,7% викликані вживанням кортикостероїдів, 21,8% – внаслідок зловживання алкоголем та 37,1% спричинені ідіопатичними механізмами [46-49].

За етіологічним фактором асептичний некроз поділяється на травматичний, який переважно є наслідком високоенергетичної травми (переломи в ділянці суглоба, травматичні дислокації – звихи, підзвихи), та нетравматичний, який може розвиватися внаслідок тривалого прийому кортикостероїдів, впливу алкоголю, наркотиків та інших токсинів, впливу радіоактивного випромінювання, жирової емболії, при захворюваннях крові (коагулопатії, серповидноклітинна анемія, хвороба Гоше), кесонної хвороби, тощо [50]. При нетравматичному асептичному некрозі на першому етапі виникає гіпертрофія адипоцитів, що призводить до порушення кровопостачання епіфізу. При травматичному варіанті до цього призводить сама травма. В подальшому обидва варіанти патогенезу є ідентичними, а саме, настає критична ішемія, яка призводить до некрозу кістки. Виникає запальний процес, який в свою чергу призводить до резорбції та руйнування кістки (рис. 1.5).

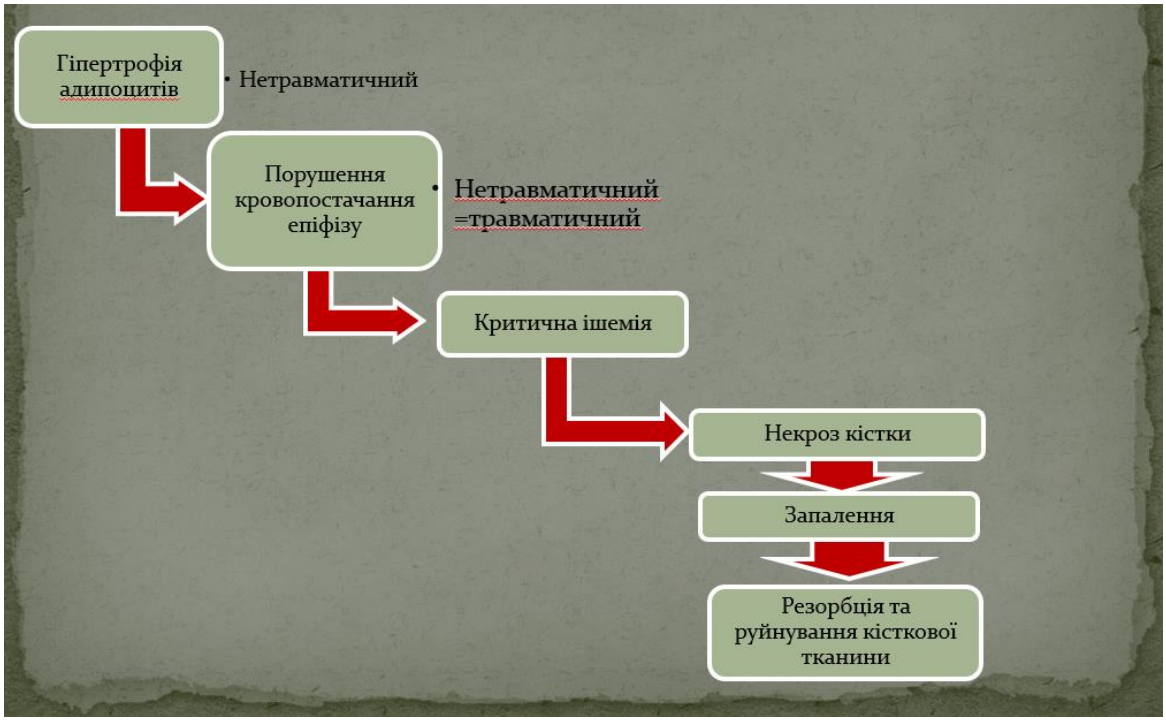


Рисунок 1.5 – Схема механізму патогенезу асептичного некрозу травматичного та нетравматичного генезу

Ендопротезування кульшового та колінного суглобів без сумніву займає лідируючі позиції в оперативному лікуванні остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів. Кількість зазначених оперативних втручань зростає кожного року, та в найближче десятиріччя матиме непохитні тенденції в цьому напрямку. Так, за даними American Assotiation of Orthopedic Surgeons та страхової компанії NerdWallett Health [51], медична система Сполучених Штатів Америки щороку витрачає близько 6 млрд доларів на ендопротезування кульшового та колінного суглобів. За даними Journal of Bone and Joint Surgery в період з 1971 по 2003 рік число ендопротезувань колінного суглоба у світі зросло на 400%, кульшового на 55%, в 2030 році кількість первинних ендопротезувань колінного суглоба сягне 3,48 млн на рік. Відповідно, кількість ревізійних ендопротезувань колінного суглоба за їх даними до 2030 року зросте на 600%, кульшового – на 137%, порівняно з 2005

роком. Дана тенденція спонукає до пошуку альтернативних методик лікування зазначеної патології для стримування подальшого інтенсивного росту кількості ендопротезувань в майбутньому з метою позитивного економічного та соціального ефекту.

Однією з таких альтернатив сьогодні стають технології регенеративної медицини, зокрема застосування клітинної терапії у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглоба [52-54].

Сучасна регенеративна медицина пропонує кілька новітніх підходів для лікування остеоартрозу, зокрема із застосуванням клітинних технологій.

Для впливу на механізм регенерації тканин опорно-рухового апарату необхідна наявність чотирьох компонентів: клітинного, морфогенетичного, провідника (в термінології тканинної інженерії «scaffold») та сприятливих умов навколишнього механічного середовища [1, 55] (рис. 1.6).

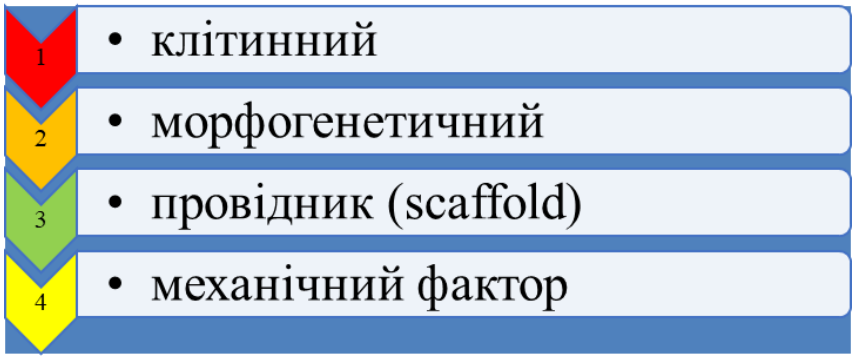


Рисунок 1.6 – Компоненти механізму регенерації тканин опорно-рухового апарату

Клітинні компоненти, які беруть участь у регенерації тканин опорно-рухового апарату, представлені тромбоцитами, що містять цитокіни («фактори росту»), які в свою чергу беруть участь у процесах регенерації тканин, фібробластами, мезенхімальними стовбуровими клітинами, хондроцитами, остеобластами тощо.

Морфогенетичний компонент регенерації представлений цитокінами, або «факторами росту». Так, в процесі регенерації тканин опорно-рухового апарату беруть участь кісткові морфогенетичні білки (BMPs 2,4,7), які є стимуляторами остеогенезу, трансформуючий та інсулінзалежний фактори росту (TGF-ß та IGF) – стимулятори хондрогенезу.

Джерелом «факторів росту» для застосування в клінічній практиці найчастіше є технології виготовлення концентратів тромбоцитів з аутологічної крові пацієнта: PRP (Platelet Reach Plasma – «збагачена тромбоцитами плазма»), PRF (Platelet Reach Fibrin – «збагачений тромбоцитами фібрин»). Крім того, таким джерелом можуть бути і інші клітини: фібробласти, МСК. Морфогенетичний компонент також може бути представлений гормонами (наприклад, соматотропний або паратиреоїдний гормон).

Для успішного застосування регенеративних технологій у лікуванні патології опорно-рухового апарату необхідним компонентом є провідник (кондуктор). В термінології тканинної інженерії даний компонент носить назву «scaffold», що в перекладі з англійської мови означає «риштування», тобто конструкцію для допомоги у зведенні будівлі. Даний термін чітко відображає функцію провідника в процесі регенерації. Розрізняють наступні види кондукторів, що застосовуються в травматології та ортопедії: натуральні полімери (колаген, гіалуронова кислота, гідроксиапатит тощо), керамічні (керамічний гідроксиапатит, ß-трикальційфосфат тощо), синтетичні біодеградуючі полімери (полімолочна кислота), тканинний екстрацелюлярний матрикс (демінералізований кістковий матрикс, колагенові мембрани), комбіновані провідники (рис. 1.7).

Рисунок 1.7 – Складові компонентів регенерації тканин опорно-рухового апарату

Механічний фактор є також надзвичайно важливим компонентом для вдалого застосування регенеративних технологій. В ортопедії та травматології відновлення біомеханіки (остеосинтез, корекційні остеотомії, внутрішньосуглобові оперативні втручання, ендопротезування суглобів) є обов’язковою умовою для успішного застосування методик регенеративної медицини. У той же час реконструктивні оперативні втручання в поєднанні з регенеративними технологіями є надзвичайно перспективною комбінацією.

Схематично роль кожного з компонентів регенерації тканин опорно-рухового апарату можна представити наступним чином (рис. 1.8):

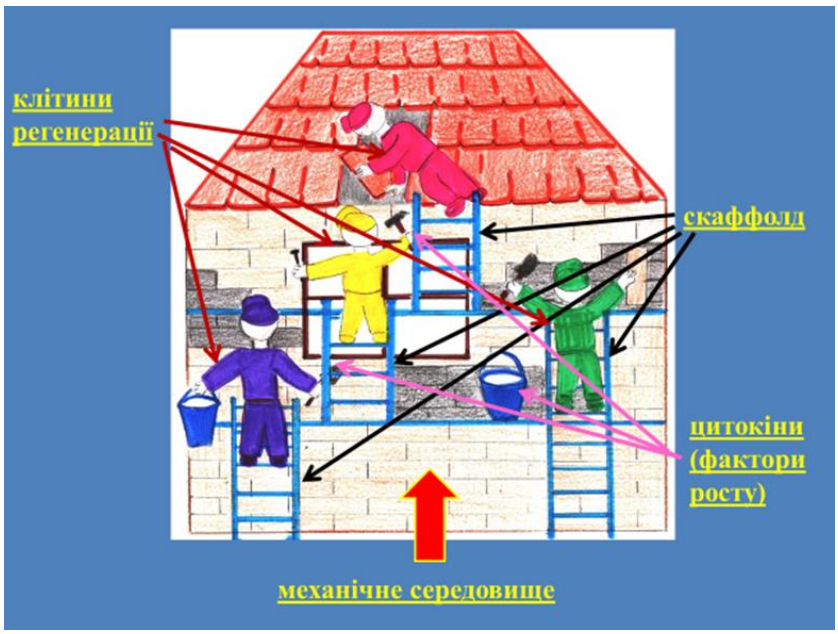


Рисунок 1.8 – Схема механізму регенерації тканин опорно-рухового апарату

Регенеративні технології в травматології та ортопедії можуть використовуватися як самостійні методики, так і у вигляді інтраопераційного застосування біотехнологічних продуктів, наприклад, для заміщення кісткових або хрящових дефектів.

Найбільш поширеними у клінічній практиці джерелами біотехнологічних продуктів з аутологічних тканин та клітин пацієнта є кров (з неї можна отримати збагачену тромбоцитами плазму, кріолізат тромбоцитів, фібриновий гель, фібриновий згусток, фібринову мембрану), кістковий мозок, який може використовуватися як в нативному вигляді, та і у вигляді концентратів – концентрованого аспірату та мононуклеарної фракції, що містять стовбурові клітини, а також бути джерелом для культивованих ММСК, а також жирова тканина, яка використовується в травматології та ортопедії у вигляді стромально-васкулярної фракції, а також може бути джерелом для культивованих мезенхімальних стовбурових клітин.

Щодо біотехнологічних продуктів з аутологічної крові, то збагачена на тромбоцити плазма (ЗТП, англ. PRP) набуває все більш поширеного клінічного

застосування. ЗТП – аутологічний концентрат тромбоцитів, ресуспендований у невеликому об’ємі плазми. Результати низки клінічних досліджень дозволили рекомендувати концентрати тромбоцитів для активації репаративних процесів у щелепно-лицевій та серцевій хірургії, ортопедії, спортивній медицині, стоматології, естетичній медицині тощо [56].

Збагачена тромбоцитами плазма містить усі необхідні компоненти для регенерації тканин, а саме скаффолд, у вигляді фібриногену, морфогенетичний компонент, у вигляді факторів росту та клітинний компонент, у вигляді тромбоцитів [57] (рис. 1.9).

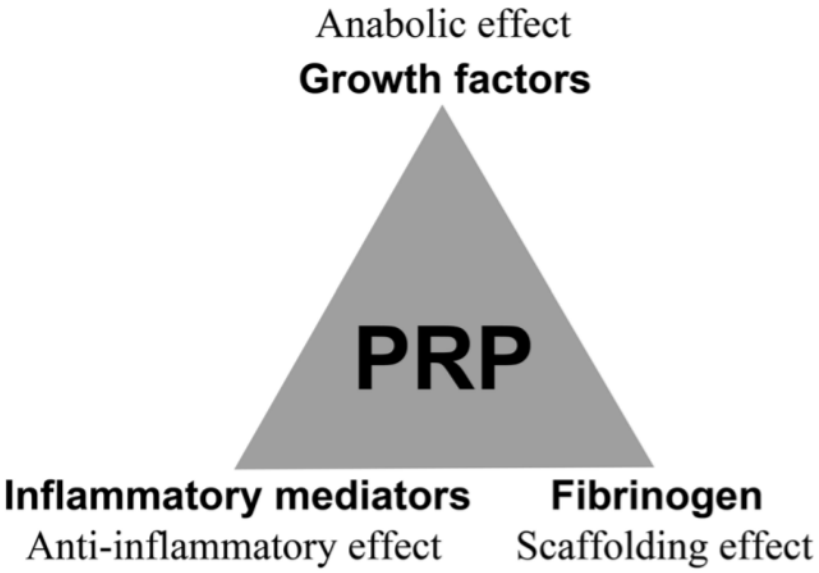


Рисунок 1.9 – Схематичне зображення прорегенеративних компонентів збагаченої тромбоцитами плазми [57]

Існують численні протоколи отримання концентратів тромбоцитів. Вважають, що стимулюючий ефект ЗТП проявляється, якщо концентрація тромбоцитів у ній становить близько 1×10^6/мкл [58]. Препарати ЗТП містять фактори згортання, адгезивні білки, можуть утворювати фібриновий згусток. Активовані тромбоцити також виділяють цілий ряд факторів росту (наприклад, епідермальний фактор росту, трансформуючий фактор росту, тромбоцитарний

фактор росту, інсуліноподібний фактор росту, фактор росту фібробластів), цитокіни (інтерлейкін-1b, інтерлейкін-8), ангіогенні фактори (фактор росту ендотелію судин) [59-60]. Механізм дії ЗТП не відрізняється від фізіологічного процесу загоєння, але дозволяє його прискорити, завдяки підвищеній концентрації факторів росту, які стимулюють проліферацію клітин-попередників та васкуляризацію локальних ділянок тканини [61].

Щодо інших аутологічних тромбоконцентратів, то препарати плазми, збідненої на тромбоцити (ПЗТ), тривалий час використовувалися в якості контролю при порівняльній оцінці вмісту тромбоцитів у препаратах ЗТП, отриманих із застосуванням різних технологічних підходів, а також як основа «фібринового клею» [62]. Однак, останнім часом за результатами експериментів кількох дослідницьких груп доведена здатність препаратів ПЗТ також стимулювати репаративні процеси [63-65].

Одними з ключових ефекторних клітин репаративних процесів, що активуються застосуванням препаратів ЗТП і ПЗТ, є мононуклеарні фагоцити, у тому числі моноцити [66]. Однак, вплив концентратів тромбоцитів на метаболічний профіль цих клітин досліджений лише фрагментарно. Відомо, що обробка моноцитів ЗТП *in vitro* спричиняє зниження антигенпрезентувальної здатності цих клітин [67]. Алогенні препарати ЗТП гальмують диференціювання моноцитів на дендритні клітини [68]. Доведено, що концентрати тромбоцитів, застосовані як самостійно, так і у складі комплексної відновлювальної терапії, гальмують сигнальні шляхи мононуклеарних фагоцитів, асоційовані з синтезом прозапальних цитокінів та ейкозаноїдів [69-70].

Зниження продукції прозапальних медіаторів є характерною ознакою фагоцитів протизапального або альтернативного (М2) метаболічного профілю [71], для яких властива посилена продукція протизапальних цитокінів порівняно з класично активованими (М1) фагоцитами. М2 клітини регулюють

активність запальної реакції, сприяють ремоделюванню і репарації пошкоджених при запаленні тканин, ангіогенезу [72].

На даний час створено багато лабораторних методик отримання ЗТП та розроблено численні комерційні набори для її виготовлення з різною ефективністю виділення тромбоцитів [73-74].

Оптимальна концентрація тромбоцитів у ЗТП для забезпечення терапевтичного ефекту є предметом наукового обговорення та численних досліджень, результати яких неоднозначні. Вважається, що для ЗТП вміст тромбоцитів повинен бути не менше 1×10^9 клітин/мл для ефективного забезпечення відновлення тканин [75-76]. Так, на культурі теноцитів було продемонстровано, що концентрація від 5×10^5 до 1×10^6 тромбоцитів/мкл в ЗТП стимулювала проліферацію та міграцію клітин, а також синтез ними колагену [77]. Натомість рівень тромбоцитів від $1\text{-}1{,}5\times10^6$/мкл посилює проліферацію ендотеліоцитів та фібробластів [78-79]. Але високі концентрації тромбоцитів можуть призводити до пригнічення метаболізму клітин та зниження синтезу ними колагену [77, 80]. Однак, у осіб похилого віку з підвищенням концентрації тромбоцитів в ЗТП проліферація клітин посилюється [81].

Концентрати тромбоцитів також містять інші типи клітин, які циркулюють в крові. Вміст лейкоцитів – один з найважливіших показників для таких продуктів, оскільки вони можуть значно впливати на його властивості [82-83]. За їх вмістом концентрати тромбоцитів поділяють на лейкоцитарні та збіднені на лейкоцити [75]. Лейкоцитарні концентрати тромбоцитів характеризуються підвищеним рівнем лейкоцитів порівняно з цільною кров'ю тоді, як в збіднених на лейкоцити, їх вміст нижчий [84-86]. Лейкоцитарні концентрати тромбоцитів містять значну кількість гранулоцитів та моноцитів, які продукують прозапальні цитокіни, зокрема TNF-α, інтерлейкіни 1β, 6 та 8. Ці цитокіни індукують експресію генів, що сприяють руйнуванню позаклітинного матриксу та посилюють процеси запалення, зокрема генів прозапальних інтерлейкінів, простагландинів, індуцибельної NO-синтази, циклоксигенази 2 та металопротеїназ [86-88]. Незважаючи на ряд можливих

негативних наслідків, лейкоцитарні концентрати тромбоцитів можуть сприяти процесам загоєння та регулювати процеси запалення, зокрема посилювати синтез факторів росту та мати виражену протимікробну дію, тому їх не слід виключати з клінічної практики [74]. Також є дані, що лейкоцитарна ЗТП стимулює проліферацію хондроцитів, тендоцитів та міоцитів, а отже лейкоцитарні концентрати тромбоцитів можуть використовуватись для лікування захворювань хрящової тканини, зокрема остеоартрозу [89-91].

При вивченні клітинного вмісту концентратів тромбоцитів недостатня увага надається вмісту еритроцитів [92]. Деякими дослідженнями показано, що у ЗТП вміст еритроцитів незначний і знижений на 90 % порівняно з цільною кров'ю [87, 93]. Однак, еритроцити можуть бути шкідливими для клітин за рахунок посилення оксидативного пошкодження та впливу на синтез компонентів позаклітинного матриксу [95-96].

Хоча ЗТП застосовується в багатьох галузях медицини [97], бракує повного розуміння механізмів її дії. Вважається, що терапевтичний ефект ЗТП зумовлений дією внутрішньоклітинних білків – факторів росту, які містяться у α-гранулах тромбоцитів. Фактори росту викликають проліферацію та міграцію клітин в пошкодженій тканині, прискорюючи процес її регенерації [72, 75, 98].

TGF-β1 – один із факторів росту, який у великій кількості присутній в тромбоцитах [76, 99]. TGF-β1 належить до надродини цитокінів TGF, що відіграють важливу роль у регенерації тканин опорно-рухового апарату. Він бере участь в усіх етапах розвитку хрящової тканини, сприяє диференціації, проліферації хондробластів та синтезу ними молекул позаклітинного матриксу, таких, як колаген II типу та протеоглікани [73-74, 94-95, 100]. Крім того TGF-β1 залучений до проліферації фібробластів сухожилків та синтезу ними позаклітинного матриксу, зокрема колагену I типу [79, 92]. Він, також, бере участь у ремоделяції кісткової тканини, сприяючи консолідації переломів кісток [80, 101].

Стосовно аутологічних біотехнологічних продуктів кісткового мозку та жирової тканини, вважається, що вони є джерелом стовбурових клітин, зокрема, мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (ММСК), а також виступають одним із альтернативних терапевтичних засобів, які можуть сповільнити дегенерацію хряща, покращити його репарацію та, в підсумку, запобігти протезуванню суглоба [102-103]. ММСК здатні не лише безпосереднього диференціюватися у хондроцити, а й продукують багато біологічно активних речовин, які мають імуномодуляторні та протизапальні ефекти, стимулюють ангіогенез та виступають індукторами хемотаксису для ендогенних прогеніторів. Завдяки високому проліферативному потенціалу *in vitro,* паракринним ефектам та здатності відновлювати пошкоджену хрящову і кісткову тканину *in vivo*, ММСК розглядають як ефективний інструмент для клітинної терапії патології опорно-рухового апарату. Серед досліджених джерел стовбурових та прогеніторних клітин за доступністю, безпекою та очікуваною терапевтичною ефективністю найбільш перспективними можна вважати ММСК кісткового мозку та жирової тканини [104].

Окремим питанням є застосування скаффолдів, як одного ключових складових у процесі регенерації тканин опорно-рухового апарату. У травматології та ортопедії застосування скаффолдів, або ж кісткова пластика, була, є і буде актуальним питанням [105-109]. Згідно статистичним даним, в Німеччині близько 40-50 тисяч пацієнтів на рік мають потребу в застосуванні алотрансплантатів, в Сполучених Штатах Америки ця цифра сягає 300-400 тисяч [110].

В Україні близько 5000 пацієнтів, які щороку оперуються з приводу патології опорно-рухового апарату, потребують застосування кісткової пластики, а саме при ендопротезуванні великих суглобів, зокрема ревізійному, реконструктивних оперативних втручаннях в дорослій та дитячій ортопедії, онкоортопедії, тощо. Реальні потреби значно вищі, оскільки оперуються лише близько 10% усіх пацієнтів, які цього потребують [111]. Основними вимогами до скаффолдів є їх безпека та біосумісність, що забезпечуються використанням

біоматеріалів з багатофункціональними властивостями, зокрема для поліпшення адгезії та проліферації клітин [106, 111].

«Золотим стандартом» вибору для заміщення дефектів кісткової тканини залишається аутотрансплантати, отримані з різних локалізацій (головка стегнової кістки, крило клубової кістки, великогомілкова кістка тощо). Віддалені результати спостереження використання аутотрансплантатів демонструють їх високу ефективність при різних патологіях [112-114].

У той же час, об'єм кісткової тканини для пластики в цьому випадку має значний ліміт, а також виникає потреба в додатковій інвазії та травмі для його забору [115]. Тому недоліки, до яких відносять ускладнення, що виникають в місці забору та обмежену кількість доступного біоматеріалу, роблять аутотрансплантацію не самим оптимальним вибором для певних груп пацієнтів [116-120]. Отже, алотрансплантат – “золота альтернатива” аутотрансплантатам.

З метою забезпечення пацієнтів ортопедо-травматологічного профілю матеріалом для кісткової пластики алогенного походження в багатьох країнах світу в окремо взятих госпіталях функціонують госпітальні кісткові банки [115, 121-123]. Принципи та стандарти роботи кісткових банків чітко прописані в законодавчих та підзаконних актах. Зокрема, в Європейському Союзі протокол діяльності кісткових банків відображений в директивах 2004/23/ЕС, 2006/17/ЕС та 2006/86/ЕС [124-126], а в Сполучених Штатах Америки – в рекомендаціях Американської асоціації тканинних банків [127]. Сучасні протоколи чітко встановлюють вимоги до кожного етапу виробництва алотрансплантата.

Джерелом алотрансплантатів для госпітальних кісткових банків переважно є живі донори, яким виконується первинне ендопротезування кульшових суглобів. В цьому випадку видалена у пацієнта головка стегнової кістки є потенційним алотрансплантатом. Протокол заготовки головки стегнової кістки, як алотрансплантата, передбачає попереднє обстеження пацієнта на предмет можливості донорства, зокрема збір анамнезу, серологічне та мікробіологічне дослідження. Найрозповсюдженішою методикою виготовлення

алотрансплантатів з головки стегнової кістки від живих донорів є кріоконсервація при температурі від -20 до -80^0 С [123].

Головною вимогою до алотрансплантата є його безпека для реципієнта (стерильність, неімуногенність). Методика виготовлення алотрансплантатів за допомогою виключно кріоконсервації (fresh frozen allografts) має певні недоліки. По перше, згідно концепції стерилізації біологічних об'єктів, він не є стерильним, оскільки стосовно нього не застосовується жоден з відомих методів стерилізації. За даними літератури інфекційні ускладнення мають місце у 7% реципієнтів, у яких застосовувалися свіжозаморожені алотрансплантати [112]. Також він не може вважатися неімуногенним та потребує додаткових даних стосовно сумісності для реципієнта. Зокрема, трансплантація від резус-позитивного донора до резус-негативного реципієнта є потенційно небезпечною з огляду на значні ризики імунних реакцій та відторгнення такого трансплантата [123].

Удосконалення методів виготовлення алотрансплантатів за останні десятиліття створили альтернативу кістковій аутотрансплантації, як єдиному методу заміщення кісткової тканини завдяки зручності та доступності використання, фактично необмеженого об´єму, можливості комбінованого використання з антибактеріальними препаратами, засобами регенеративної медицини тощо, безпеці та відсутності ризиків та ускладнень пов´язаних з забором аутологічної кістки [128-131] .

Відповідальним етапом вибору джерела алотрансплантатів є процес обстеження та вибору донора, який включає в себе морально-етичні, правові та медичні аспекти. Юридичні аспекти трансплантації регламентуються Законом України «Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині» [132], що передбачає, зокрема, можливість отримання та використання біологічних матеріалів від живих донорів.

Однією з найбільших загроз при виконанні алотрансплантації залишається можливість передачі інфекційних захворювань. Для виключення донорів, які можуть становити потенційну загрозу, провідними європейськими фахівцями

були розроблені стандарти, які дозволяють значно покращити якість і безпеку отриманих матеріалів [133-134].

Сучасні стандарти роботи банків тканин передбачають жорсткий контроль на усіх етапах: вибору потенційного донора, карантину тканин та процесу їх обробки. Окрім того передбачена можливість подальшого контролю за всіма використаними зразками тканин.

Відбір потенційних донорів є важливим етапом та повинен проводитись за участі кваліфікованого лікаря, з ретельним збором анамнезу інфекційних захворювань, соціальних умов та загального обстеження. У Великобританії близько 48% усіх потенційних донорів виключаються з подальшого відбору ще в передопераційному періоді, до 22% відібраних зразків тканин виключаються на подальших етапах обстеження [135-136]. Отже, обстеження донорів є також важливим та невід'ємним компонентом методології обстеження пацієнтів, в тому числі пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом при застосуванні у них регенеративних технологій.

Окремим пунктом є доцільність та показання до застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку. Одним з основних маркерів регенеративних процесів у цій категорії є скелетна зрілість та період статевого розвитку. Як зазначалося нами в попередніх роботах [137-142] з вивчення питань скелетної зрілості, вона характеризує розвиток скелета у окремо взятої особи, тому може використовуватися, як біомаркер регенеративного потенціалу у пацієнтів дитячого та підліткового віку. Таким чином, визначення скелетної зрілості має значні перспективи для визначення показань до застосування регенеративних технологій у зазначеної категорії пацієнтів.

В той же час, незважаючи на значні досягнення в застосуванні регенеративних технологій в травматології та ортопедії, цей напрямок знаходиться лише на початку свого розвитку та потребує з'ясування багатьох невирішених питань, починаючи від показань до їх застосування, особливостей

обстеження пацієнтів, термінології та класифікації біотехнологічних продуктів та методик регенеративної медицини, та закінчуючи вивченням механізмів їх впливу на регенерацію тканин опорно-рухового апарату, розробкою диференційованого підходу до застосування та оцінки його результатів. І найскладнішим питанням у застосуванні регенеративних технологій є поєднання принципів доказової та персоналізованої медицини.

Ще однією актуальною проблемою при застосуванні регенеративних технологій є питання онкогенності, особливо при застосуванні біотехнологічних продуктів, які містять стовбурові клітин. Сучасні дослідження дедалі частіше вказують на провідну роль епігенетичних структур у онкогенезі [143-145]. Останніми роками найбільш перспективним напрямком вважається вивчення ролі мікроРНК, як епігенетичного фактору, який відіграє одну з ключових ролей у розвитку онкологічних захворювань.

МікроРНК – це клас невеликих ендогенних некодуючих РНК, які складаються з 21-25 нуклеотидів, беруть участь у регуляції трансляції та деградації мРНК та регулюють експресію генів. На рис. 1.10 представлено процесинг мікроРНК [143].

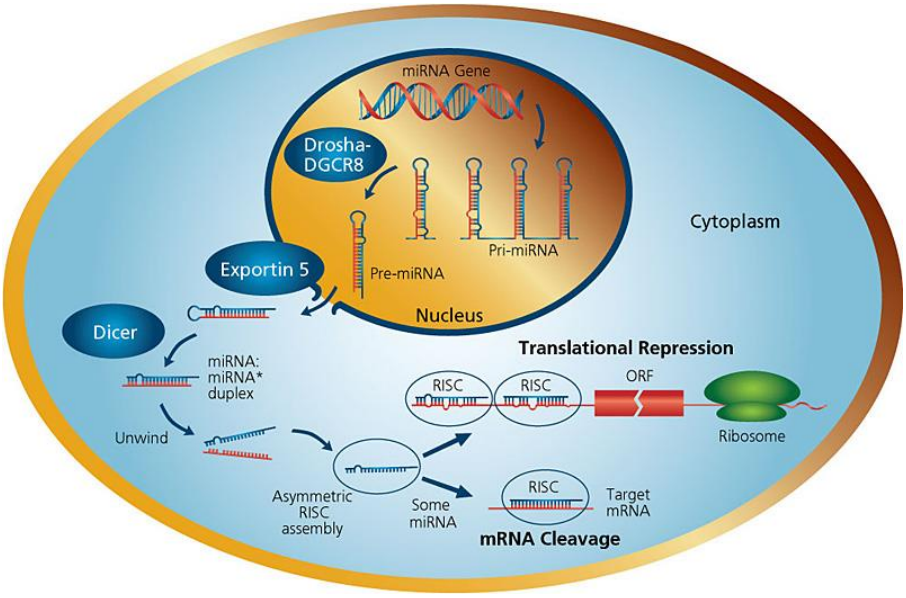


Рисунок 1.10 – Схема процесингу мікроРНК [143]

Саме тому у даній роботі ми приділили значну увагу визначенню мікроРНК, як складової частини методології обстеження пацієнтів, яким проводилося лікування з застосуванням клітинних технологій. Слід зазначити, що роль мікроРНК сьогодні вивчається не лише з огляду на етіологію та патогенез онкологічних захворювань, але й у розвитку та прогресуванні остеоартрозу [146-151].

Так, мікроРНК мають вирішальне значення для всіх клітинних процесів і тому відіграють важливу роль у процесі хондрогенезу та ремоделяції хряща [151-155]. У нашому дослідженні можливий вплив мікроРНК на виникнення та перебіг остеоартрозу, ми продемонстрували на прикладі юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки. Нами було обрано мікроРНК-21 через її важливість у процесі проліферації і диференціювання клітин, хондрогенезі та ремоделяції хрящової тканини [156]. Крім того, мікроРНК-21 бере участь у регуляції рівня гормонів, що також має надзвичайно важливе значення для патогенезу юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки (ЮЕГСК) та остеоартрозу [157]. МікроРНК-21 регулює експресію гену GDF-5 та діє в якості сигнального шляху для хондрогенезу. Відомо, що мутація в GDF-5 викликає епіфізарну дисплазію [158], що характеризується раннім початком остеоартрозу [159-160]. Більш того, функціональний поліморфізм в GDF-5 безпосередньо пов'язаний зі схильністю до остеоартрозу [161-162]. Отже, з огляду на важливу роль мікроРНК-21 у розвитку остеоартрозу [160,163], в даному дослідженні ми зосередили увагу саме на її вивченні.

Слід зазначити, що сьогодні вивчається роль мікроРНК не лише в етіології та патогенезі остеоартрозу, але й у лікуванні цього захворювання [149, 154, 164].

Наступним важливим моментом без сумніву є впровадження регенеративних технологій у клінічну практику.

Регенеративна інтервенційна ортопедія – це напрямок, який розвивається саме завдяки поєднанню досягнень сучасної регенеративної медицини та

методик візуалізації [165]. Фактично, регенеративні інтервенційні технології (РІТ) - це своєрідний «міст» між традиційними консервативними методиками лікування та хірургічними втручаннями.

Звісно, що використання методик візуалізації, зокрема УЗД та С-дуги, було актуальне і раніше. Ультразвуковий контроль використовувася для внутрішньосуглобового введення гіалуронової кислоти та кортикостероїдів, С-дуга – для тунелізації кістки при асептичному некрозі різної локалізації. Але зі стрімким розвитком та впровадженням регенеративних технологій, діапазон використання ультразвукового та рентгенологічного контролю інтервенційних процедур значно розширився.

Завдяки розвитку ультразвукової та радіологічної навігації збільшилися можливості регенеративних інтервенційних технологій. Доступним та актуальним стало не лише внутрішньосуглобове введення біотехнолгічних продуктів, але і локальне, в ту чи іншу внутрішньосуглобову або парасуглобову структуру [166].

Зокрема, в кульшовому суглобі ін'єкції при потребі можна виконати в суглобову губу, зв'язки та місця прикріплення м'язів (рис. 1.11) [167].

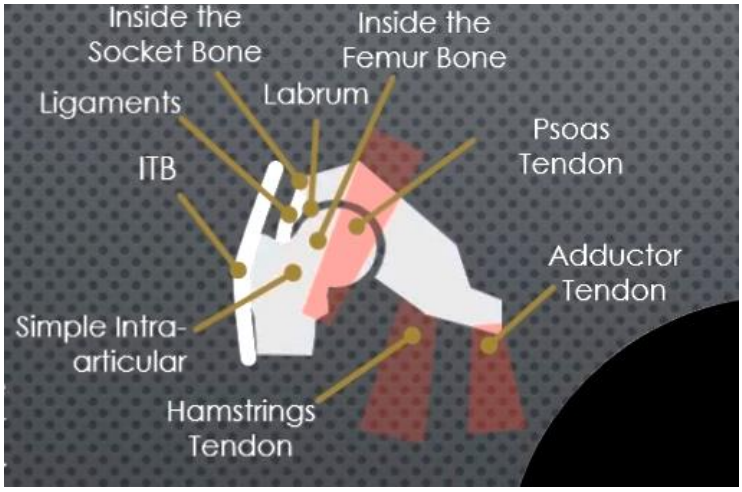


Рисунок 1.11 – Схематичне зображення топіки ін'єкцій в ділянку кульшового суглоба [167]

В колінному суглобі завдяки навігації доступними для ін'єкцій є меніски, сухожилки, зв'язки та місця прикріплення м'язів (рис. 1.12) [167].

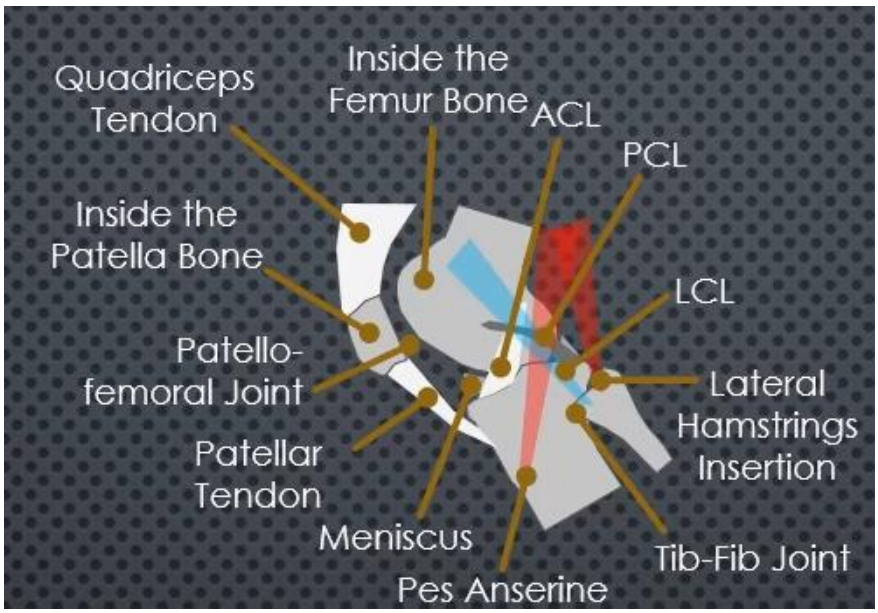


Рисунок 1.12 – Схематичне зображення топіки ін'єкцій в ділянку колінного суглоба [167]

Дедалі більш актуальними при остеоартрозі та асептичному некрозі стають методики внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів [168]. Зазначені методики внтутрішньокісткових ін'єкцій розвиваються, вдосконалюються та використовуються не лише при асептичному некрозі головки стегнової кістки [169-170], але й при остеоартрозі кульшового та колінного суглобів, навіть в його пізніх стадіях [171-172] та стають реальною альтернативою ранньому ендопротезуванню суглоба.

Отже, зважаючи на вищезазначене, заплановане нами дослідження є актуальним як з теоретичної, так і практичної точки зору, а очікувані результати здатні забезпечити значний науковий та практичний внесок у розвиток травматології та ортопедії і медичної науки загалом.

РОЗДІЛ 2
НАПРЯМИ ТА ГРУПИ АНАЛІЗУ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ІНТЕРВЕНЦІЙНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ТА РЕЗУЛЬТАТІВ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У ПАЦІЄНТІВ З ОСТЕОАРТРОЗОМ ТА АСЕПТИЧНИМ НЕКРОЗОМ КУЛЬШОВОГО ТА КОЛІННОГО СУГЛОБІВ. ДИЗАЙН, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій розділили на два напрями – експериментальний та клінічний (рис. 2.1):

До експериментального напряму включили *in vitro* дослідження біотехнологічних продуктів та їх регенеративних ефектів, до клінічного – розробку засад клініко-інструментального та лабораторного обстеження пацієнтів, дослідження критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів та їх застосування, а також розробку персоналізованого підходу до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів.

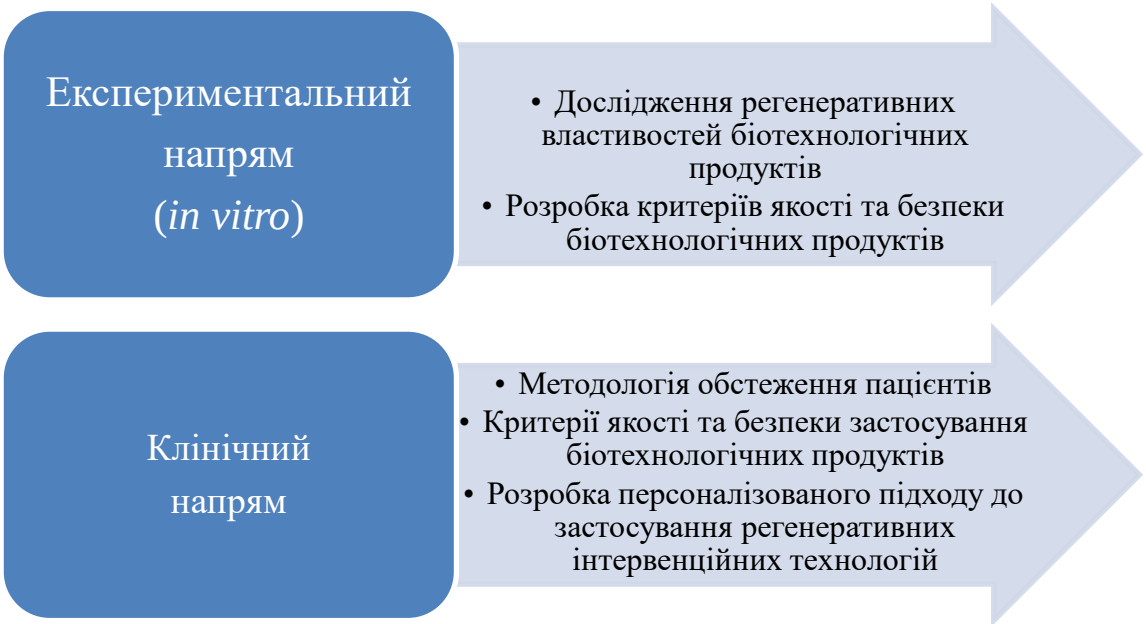


Рисунок 2.1 – Напрями дослідження пацієнтів з остеоартрозом і асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій

Загальну групу дослідження склали 1640 пацієнтів. Структура груп дослідження представлена наступною схемою (рис. 2.2):

Рисунок 2.2 – Схематичне зображення структури матеріалів і методів для розробки методології обстеження і критеріїв якості та безпеки виготовлення та застосування біотехнологічних продуктів для лікування остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів

2.1 Дизайн експериментального *in vitro* дослідження регенеративних властивостей мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на прикладі периферичної крові та аспірату кісткового мозку

Експериментальне *in vitro* дослідження включало наступні напрямки:

- вивчення ефектів Л-ЗТП та ПЗТ на метаболізм моноцитів аутологічної периферичної крові людини;

- визначення рівня TGF-β1 у збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату;

- визначення вмісту клітин крові в лейкоцитарній та збідненій на лейкоцити збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із патологією опорно-рухового апарату.

2.1.1 Матеріали та методи для дослідження ефектів Л-ЗТП та ЗЛ-ЗТП на метаболізм моноцитів аутологічної периферичної крові людини

Стосовно першого напрямку - у дослідженні взяли участь 3 здорових донори, чоловіків віком 35-40 років. Критеріями відбору учасників дослідження були: відсутність соматичної патології та патології крові, відсутність прийому лікарських засобів упродовж 1 місяця до проведення досліджень. Матеріалом для досліджень була периферична кров, взята з антикоагулянтом.

Виділення моноцитів периферичної крові та їх обробка концентратами тромбоцитів. Моноцити виділяли у градієнті щільності фікол-урографіну (ρ=1,068), кількість виділених живих клітин підраховували у камері Горяєва із використанням трипанового синього, після цього доводили концентрацію живих клітин до 1×10^6/мл. Обробку виділених клітин концентратами тромбоцитів проводили упродовж 30 хв та за температури 37^0С для оцінки продукції внутрішньоклітинних реактивних форм кисню та фагоцитарної активності та 14 год при 37^0С для оцінки продукції NO та аргіназної активності.

Виділення концентратів тромбоцитів. У дослідженні застосовували два препарати плазми з різним вмістом тромбоцитів: Л-ЗТП – лейкоцитарну збагачену тромбоцитами плазму та ПЗТ – плазму збіднену на тромбоцити.

Л-ЗТП – отримували шляхом подвійного центрифугування, проведеного у два етапи. На першому етапі зразок крові центрифугували для розподілу на три фракції (еритроцитарну, лейкоцитарну і плазму, яка містить тромбоцити). На другому етапі плазму та лейкоцитарний шар відбирали і центрифугували для осадження клітин та їх концентрування. ПЗТ отримували з Л-ЗТП шляхом відбору з поверхневого (безклітинного) шару надосадової рідини.

Зразки крові, плазми та біотехнологічних продуктів аналізували в лабораторії біохімії сполучної тканини та клінічних аналізів ДУ "ІТО НАМН України" на гематологічному аналізаторі HumanCount 5D (сертифікат № ПТ-164/23 від 11.05.2023 року).

Оцінка продукції внутрішньоклітиних реактивних форм кисню моноцитами периферичної крові. Рівень продукції внутрішньоклітинних реактивних форм кисню (РФК) визначали методом проточної цитофлюориметрії, використовуючи барвник 2’7’-дихлордигідро-флюоресцеїн-диацетат (ДХФ) (carboxy-H2DCFDA, Invitrogen, США), котрий перетворюється внутрішньоклітинними естеразами на нефлюоресцентну мембранонепроникну похідну карбокси-H2DCF. Карбокси-H2DCF окиснюється до флюоресцентної похідної carboxy-DCF внутрішньоклітинними РФК [173].

Оцінка фагоцитарної активності моноцитів периферичної крові. Фагоцитарну активність визначали методом проточної цитофлюориметрії, використовуючи, як об’єкт фагоцитозу, клітини *S. aureus Cowan I* (з колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології та імунології ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка), які культивували на м’ясо-пептонному агарі, інактивували нагріванням і мітили флюоресцеїн-ізотіоціанатом (FITC). Результати представляли, як відсоток фагоцитуючих клітин (фагоцитарне число, ФЧ) та інтенсивність фагоцитозу (фагоцитарний індекс, ФІ), яка була пропорційна інтенсивності флюоресценції клітини, що ендоцитувала мічені мікроорганізми.

Оцінка продукції NO та аргіназної активності моноцитів периферичної крові. Для характеристики продукції NO моноцитами визначали рівень продукції ними нітритів за реакцією Гріса. Для визначення аргіназної активності проводили реакцію гідролізу L-аргініну. Облік результатів концентрації нітритів та сечовини проводили спектрофотометричним методом на мікроплейтфотометрі при довжині хвилі 545 нм та 540 нм відповідно. Рівень

нітритів та сечовини визначали за калібрувальною кривою, побудованою з використанням стандартних розчинів [174].

Для кожного варіанту досліду проби ставили у трьох повторах.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням методів варіаційної статистики з визначенням M±m. Статистично достовірними вважали відмінності за умов $p \leq 0,05$.

2.1.2 Матеріали та методи для визначення рівня TGF-β1 в збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату

По другому напрямку матеріалом для дослідження стали аутологічні біотехнологічні продукти крові 14 пацієнтів з різними захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату. Пацієнти мали виключно локальну патологію опорно-рухового апарату, без системних супутніх захворювань, тому дану вибірку можна вважати однорідною. Серед них було 7 жінок та 7 чоловіків віком від 21 до 79 років, середній вік пацієнтів становив 49±22 років. У дослідженні брали участь жінки віком від 21 до 79 років із середнім віком 52±25 роки та чоловіки віком 25–77 років з середнім віком 48 ± 20років. У пацієнтів була отримана інформована згода про проведення дослідження.

Для приготування ЗТП проводили забір 50 мл венозної крові у вакуумні пробірки з антикоагулянтом – цитратом декстрози. Забір крові проводили натщесерце, за тиждень до забору крові відміняли пацієнтам нестероїдні протизапальні препарати, призначали спеціальну дієту (заборона жирної, смаженої та гострої їжі, рекомендували вживання рідини до 3-х літрів на добу, забороняли вживання кави) та режим (відмова від тютюнопаління та вживання алкоголю).

Кров центрифугували при 250 xg протягом 10 хв для розділення плазми та формених елементів крові за допомогою центрифуги CM-3 (*MICROmed*, Китай). Після цього плазму переносили в нові пробірки та центрифугували при 2300 xg

протягом 5 хв. Осад з тромбоцитами ресуспендували в 3 мл плазми, збідненої тромбоцитами (ПЗТ). ПЗТ, яку отримували при другому центрифугуванні плазми, була використана, як контроль. Зразки ЗТП та ПЗТ об'ємом 500 мкл заморожували та зберігали при -20 ^{0}С.

Для проведення імуноферментного аналізу зразки ЗТП та ПЗТ розморожували при кімнатній температурі і центрифугували при 250xg протягом 10 хв. Надосад використовували для подальшого дослідження вмісту TGF-β1 шляхом імуноферментного аналізу з використанням набору TGF-β1 ELISA (*DRG International, Inc,* США) згідно з інструкцією виробника. Вимірювання оптичної густини проводили на багатофункціональному мікропланшетному аналізаторі Synergy HT SIAFRTD (*Bio-Tek Instruments*, США) при довжині хвилі 450 нм. За показниками оптичної густини стандартів з відомими концентраціями TGF-β1 будували калібрувальну криву, за якою розраховували вміст TGF-β1 (нг/мл).

Числові характеристики показників оцінено методами описової статистики та представлено у вигляді середнього значення та стандартного відхилення. Як критерій достовірності відмінностей значень між групами порівняння використовувався параметричний t-критерій Стьюдента. Відмінності між групами порівняння вважали достовірними при $p<0,05$. Статистичний аналіз даних проводився в програмі Excel statistics (*Microsoft*, США).

2.1.3 Матеріали та методи для дослідження вмісту клітин периферичної крові в лейкоцитарній та збідненій на лейкоцити збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із патологією опорно-рухового апарату

Матеріалом для дослідження стали кров, плазма та аутологічні біотехнологічні продукти крові 30 пацієнтів з різними захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату. Серед них було 20 жінок віком від 26 до 78

років (середній вік склав 55 ± 12 років) та 10 чоловіків віком 28-69 років (середній вік 48 ± 14 років).

За інформованою згодою у пацієнтів натщесерце отримували венозну кров, з якої було виготовлено 20 лейкоцитарної та 21 – збідненої на лейкоцити збагаченої тромбоцитами плазми. Препарати отримували за методикою Araki [73] з деякими модифікаціями. Також було отримано 41 контрольний зразок венозної крові та плазми. У осіб, які брали участь в дослідженні, не було діагностовано тромбоцитопенії або анемії. Вони також мали виключно локальну патологію опорно-рухового апарату без загострення супутньої патології, тому дану вибірку можна вважати однорідною.

За тиждень до забору крові пацієнтам відміняли прийом нестероїдних протизапальних препаратів, призначали спеціальну дієту (заборона жирної, смаженої та гострої їжі, вживання рідини до 3-х літрів на добу, заборона вживання кави) та режим (відмова від тютюнопаління та вживання алкоголю).

Розподіл пацієнтів за різновидами препаратів крові та за видами патологій представлено в таб. 2.1.

Таблиця 2.1 – Типи виготовлених препаратів крові у пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату для дослідження вмісту клітин периферичної крові в лейкоцитарній та збідненій на лейкоцити збагаченій тромбоцитами плазмі

Пацієнт	**Вік**	**Стать**	**Діагноз**	**Тип ЗТП**
1	61	чоловіча	гонартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
2	78	жіноча	артроз плечового суглоба	ЗЛ-ЗТП
3	74	жіноча	гонартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
4	36	жіноча	сповільнена консолідація перелому	Л-ЗТП
5	59	жіноча	гонартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
6	46	жіноча	пошкодження сухожилка надостьового м'яза	ЗЛ-ЗТП

Продовження табл. 2.1				
7	66	жіноча	гонартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
8	63	чоловіча	пошкодження меніска	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
9	57	жіноча	коксартроз	Л-ЗТП
10	56	жіноча	гонартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
11	36	чоловіча	неконсолідований перелом великогомілкової кістки	Л-ЗТП
13	29	чоловіча	остеохондроз хребта	Л-ЗТП
14	69	чоловіча	артроз гомілковостопного суглоба	ЗЛ-ЗТП
15	48	чоловіча	остеохондроз хребта	ЗЛ-ЗТП
16	62	жіноча	гонартроз	Л-ЗТП
17	55	жіноча	коксартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
18	26	жіноча	хондромаляція надколінка	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
19	48	жіноча	коксартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
20	60	жіноча	пошкодження меніска	ЗЛ-ЗТП
21	52	жіноча	гонартроз	Л-ЗТП ЗЛ-ЗТП
22	57	жіноча	коксартроз	Л-ЗТП
23	48	жіноча	коксартроз	Л-ЗТП
24	54	жіноча	тендинопатія надостьового м'яза	Л-ЗТП
25	54	чоловіча	коксартроз	Л-ЗТП
26	58	чоловіча	гонартроз	ЗЛ-ЗТП
27	49	жіноча	пошкодження меніска	ЗЛ-ЗТП
28	64	жіноча	коксартроз	Л-ЗТП
29	28	чоловіча	пошкодження меніска	Л-ЗТП
30	49	жіноча	пошкодження меніска	ЗЛ-ЗТП

Для приготування препарату лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми проводили забір 50 мл венозної крові у вакуумні пробірки Vacutainer

об'ємом 10 мл з антикоагулянтом цитратом декстрози (*BD*, США). Після відбору венозну кров центрифугували при 250 xg протягом 10 хв для розділення плазми та формених елементів крові за допомогою центрифуги СМ-3 (*MICROmed*, Китай). Після центрифугування плазму крові обережно помішували, що дозволяло підвищити концентрацію у ній лейкоцитів, оскільки лейкоцити підіймаються у плазму з верхнього шару осаду («buffy coat»), що містить більшість лейкоцитів. Після цього плазму крові об'ємом 25-30 мл з підвищеним вмістом лейкоцитів переносили в нові пробірки об'ємом 10 мл та центрифугували при 2300 xg протягом 5 хв. Отриманий осад, що містив тромбоцити, ресуспендували в 3 мл плазми, збідненої на тромбоцити, яка залишалась при вилученні більшості тромбоцитів після другого центрифугування. Об'єм плазми в 3 мл є оптимальним для введення в суглоб пацієнта для зменшення больових відчуттів при ін'єкції від надлишку введеної рідини, тому він був обраний для дослідження. Більшу частину (близько 90 %) плазми, збідненої на тромбоцити видаляли.

Для приготування препарату збідненої на лейкоцити збагаченої тромбоцитами плазми проводили забір 50 мл венозної крові у вакуумні пробірки об'ємом 10 мл з антикоагулянтом цитратом декстрози (BD Vacutainer, США). Плазму крові після першого центрифугування при 250 xg протягом 10 хв відбирали в нові пробірки об'ємом 10 мл без перемішування для зменшення вмісту лейкоцитів в ній. Після цього відібрану плазму центрифугували при 2300 xg протягом 5 хв. Отриманий осад, що містив тромбоцити, також ресуспендували в 3 мл плазми збідненої на тромбоцити. При цьому більшу частину плазми, збідненої на тромбоцити, видаляли. Загальна схема отримання ЗТП наведена на рис. 2.3.

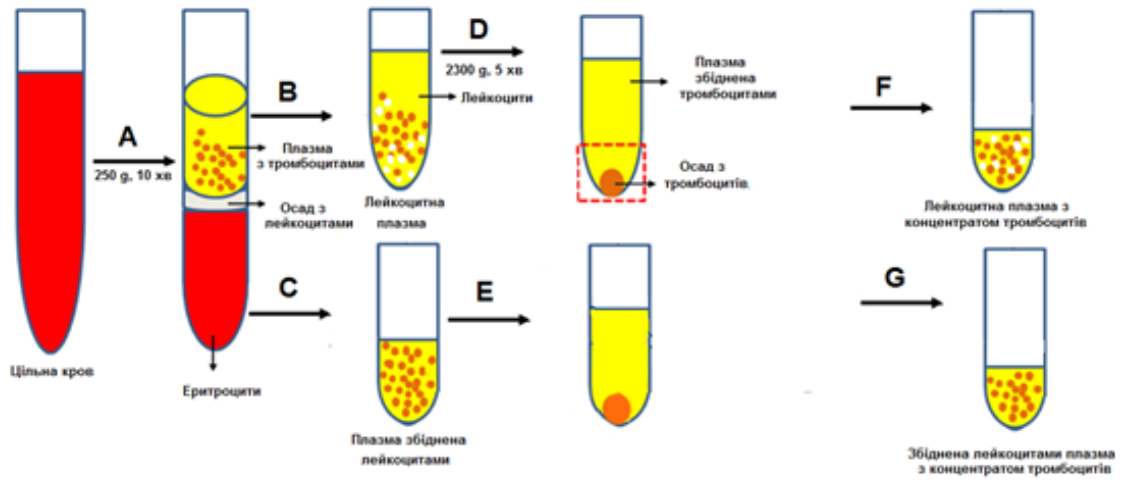


Рисунок 2.3 – Схема отримання лейкоцитвмісної та збідненої лейкоцитами плазми з концентратом тромбоцитів з цільної крові (за Liu F, 2019)

Для дослідження вмісту клітин в цільній крові, плазмі та плазмі, збідненій на тромбоцити, відбирали їх зразки об'ємом 1,5 мл. Збагачену тромбоцитами плазму розводили у 2 рази розчином Хартмана (*Інфузія*, Україна), що враховували при підрахунку кількості клітин.

Числові характеристики показників розраховано методами описової статистики та представлено у вигляді середнього значення та стандартного відхилення M ± m. Як критерій достовірності відмінностей значень між групами порівняння використовувався параметричний t-критерій Стьюдента з поправкою Бонферонi. Відмінності між групами порівняння вважали достовірними при $p \leq 0,05$. Статистичний аналіз даних проводили в програмі MS Excel (*Microsoft*, США).

2.2 Дизайн дослідження для розробки критеріїв якості та безпеки мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на прикладі периферичної крові та аспірату кісткового мозку

Матеріалом для розробки критеріїв якості та безпеки мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів була периферична кров 778

пацієнтів та аспірат кісткового мозку 85 пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату (рис. 2.4).

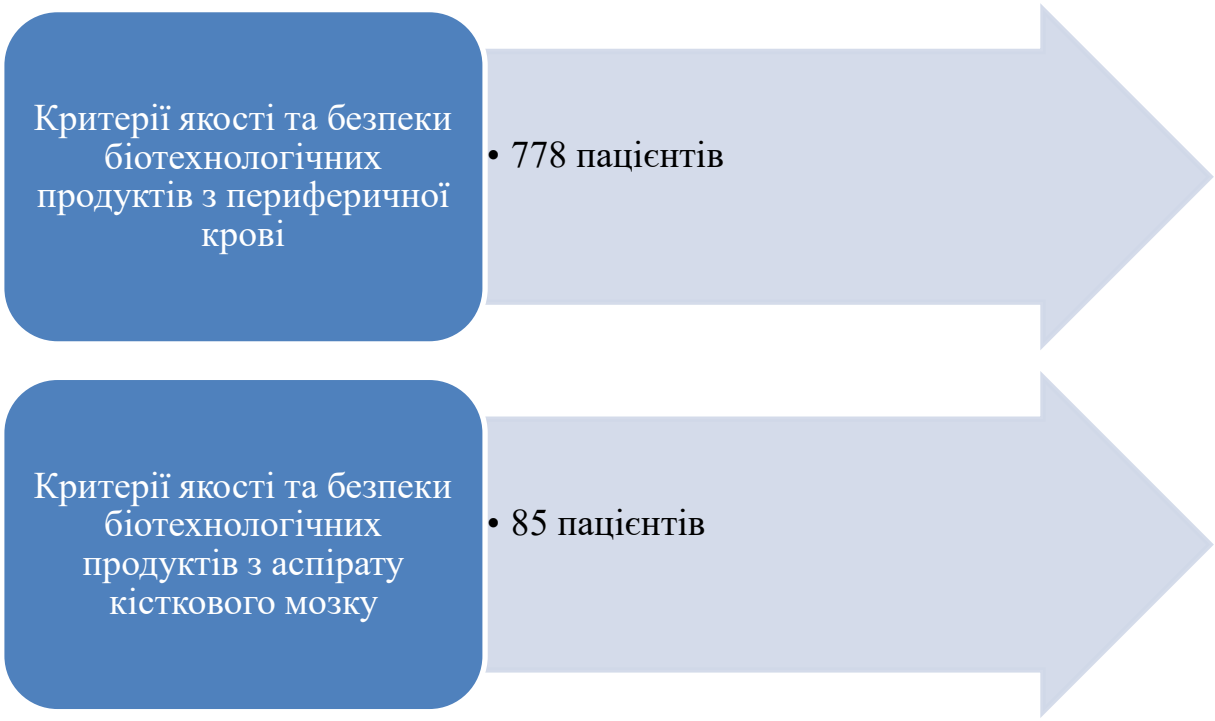


Рисунок 2.4 – Схематичне зображення структури груп дослідження для розробки критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів для лікування остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів

2.2.1 Матеріали та методи для розробки критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів з периферичної крові

Матеріалом для виготовлення біотехнологічних продуктів з аутологічної крові стала периферична венозна кров 778 пацієнтів (338 чоловіків та 440 жінок) віком від 22 до 83 років (середній вік – 52,5 роки) з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, пошкодженням зв'язок та сухожилків, остеохондрозом хребта.

Зазначеним пацієнтам виготовляли наступні варіанти біотехнологічних продуктів з аутологічної крові:

- лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма – 98 пацієнтів,
- малолейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма – 143 пацієнта,
- збіднена тромбоцитами плазма – 74 пацієнта,
- гіперконцентрована збагачена тромбоцитами плазма – 112 пацієнтів,
- кріолізат тромбоцитів – 351 пацієнт.

Усі маніпуляції з біологічним матеріалом проводили з дотриманням асептичних умов в ламінарному боксі DFZ-M680 (Україна) для захисту продукту від контамінації.

Отриману суспензію розділяли на аліквоти по 3 мл в кріопробірки та зберігали в кріокамері при температурі -20 ºС. Перед використанням кріолізат тромбоцитів розморожували на водяній бані Micromed ВБ-4 (ХТМЕ-205) (Україна) при температурі 37ºС протягом 10 хв. Центрифугували суспензію при 150 g протягом 5 хв. Відбирали надосад стерильним шприцем. Усі маніпуляції з біологічним матеріалом проводили в ламінарному боксі.

Мікробіологічне дослідження тромбоконцентратів. Мікробіологічне дослідження проводили в лабораторії мікробіології ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України». Отримані тромбоконцентрати тестували на стерильність. Відбирали 0.5 мл отриманого тромбоконцентрату та вносили у флакон з поживним середовищем для аеробів, анаеробів та грибкової флори, який поміщали в аналізатор BACT/Alert (Biomeriaux, США). Експозиція відбувалася протягом 7 діб, визначався ріст аеробної, анаеробної та грибкової флори. Зазначена методика тестування на стерильність є обов'язковою вимогою, а також є валідованою. Критерії якості оцінювали шляхом підрахунку клітин у біотехнологічних продуктах та оцінки їх співвідношення. Для підрахунку клітин використовували автоматичний гематологічний аналізатор HumaCount 5D (Німеччина). Оцінювали мікробіологічну безпеку продукту, а саме визначення наявності аеробної, анаеробної та грибкової флори у біотехнологічному продукті.

2.2.2 Матеріали та методи для розробки критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів з аутологічного аспірату кісткового мозку

Дослідження проводили на базі відділення тканинної та клітинної терапії ДУ «ІТО НАМН України» в період з 2021 по 2024 роки. Для дослідження було використано аспірат червоного кісткового мозку 85 пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, яким в подальшому виготовляли біотехнологічні продукти з нього. Аспірат кісткового мозку 71 пацієнта було використано для підрахунку клітин у мієлограмі, 14 пацієнтів – для КУОф-аналізу ММСК-КМ**.** Ми проводили виділення червоного кісткового мозку з гребня клубової кістки. За даними літератури дана локація переважає інші можливі за кількістю отриманих клітин-попередників порівняно з великогомілковою та п'ятковою кістками [175].

Виготовлення мазка аспірату кісткового мозку для підрахунку клітинного складу проводили наступним чином. Взявши предметне скло за довгі краї, торкалися його поверхнею (відступивши 0,5–1 см від вузького краю) до краплі аспірату (але не до шкіри). Крапля повинна бути невеликого розміру, і її потрібно розмістити так, щоб весь мазок містився на склі, не доходячи 1–1,5 см до його краю. Фіксували мазок аспірату кісткового мозку за Май-Грюнвальдом [176], Забарвлювали за Романовським: фарбували елементи клітин в різні кольори і відтінки сумішшю основних (азур II) і кислих (водорозчинний жовтий еозин) барвників. Фарбування здійснювали готовим розчином фарби Романовського (ЕксімКаргоТрейд, Україна) протягом 40 хв. Після повного висихання мазок був готовий до підрахунку. Підрахунок здійснювали у клінічно-діагностичній лабораторії комунального неприбуткового підприємства «Київська міська клінічна лікарня № 9». За результатами підрахунку мазків формували мієлограму відповідного зразку аспірату КМ.

КУОф-аналіз ММСК-КМ. Гепаринізований (2 ОД/мл гепарину натрія, Індар, Україна) аспірат червоного кісткового мозку, відібраний з гребеня клубової кістки, засівали в повне ростове середовище, що містило поживне

базове середовище MEM alpha modified (BioWest, Франція), 10% ЕТС (Sigma-Aldrich, США), 1 нг/мл bFGF (Sigma-Aldrich, США), розчин антибіотику-антимікотику (BioWest, Франція), 2 ОД/мл гепарину натрія (Індар, Україна) з розрахунку 5,7 млн ядровмісних клітин аспірату червоного кісткового мозку на велику чашку Петрі діаметром 100 мм (SPL, Korea; три чашки з 10 мл повного ростового середовища на кожний зразок кісткового мозку) та культивували протягом 14 діб в CO2-інкубаторі за 37С° та в 5% атмосфері вуглекисню і 96% насичуючої вологості. Зміну ростовго середовища в чашках проводили кожну третю добу. Після 14 діб культивування чашки Петрі з колоніями (колонієутворюючі одиниці фібробластів, або КУОф) відмивали фосфатно-сольовим буфером (BioWest, Франція) та фіксували протягом 20 хв при кімнатній температурі розчином забуференого формаліну (Хімлаборреактив, Україна), фарбували розчином гематоксиліну-еозину (Хімлаборреактив, Україна). Забарвлені колонії підраховували, результати вносили в таблицю.

В усіх пацієнтів перед проведенням дослідження та лікування була отримана інформована згода. Дослідження проводилися з дотриманням принципів біоетики (протокол №1 засідання комітету з біоетики ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України від 11 січня 2021 року).

2.3 Дизайн дослідження для розробки технології виготовлення скаффолдів за методикою госпітального кісткового банку

2.3.1 Матеріали та методи обстеження донорів головок стегнових кісток

На підставі аналізу законодавства України, що стосується трансплантації тканин, світового досвіду діяльності кісткових банків та власного досвіду виготовлення кісткових алотрансплантатів від живих донорів, нами

запропоновано протокол виробництва кісткових трансплантатів алогенного походження від живих донорів.

В ході дослідження у відборі донорів кісткової тканини взяли участь 640 пацієнтів, що звертались за допомогою в ДУ «ІТО НАМН України» та в КМКЛ №12 в період з 01.01.2018 по 30.12.2024 року з приводу проведення їм первинного ендопротезування кульшового суглоба. Середній вік респондентів на момент огляду складав 52,5 роки (від 38 до 84 років). Переважали хворі жіночої статі – 370, чоловіків – 270. Серед діагнозів, з приводу яких проходило консультування були наступні: диспластичний коксартроз – 90 пацієнтів, коксартроз (інший) – 330 пацієнтів, перелом шийки стегнової кістки – 150 пацієнтів, асептичний некроз головки стегнової кістки – 70 пацієнтів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 – Розподіл первинної вибірки опитаних пацієнтів за нозологіями та статтю

Діагноз	Ч	Ж	Всього
Первинний коксартроз	160	170	330
Диспластичний коксартроз	30	60	90
Перелом шийки стегнової кістки	60	90	150
Асептичний некроз головки стегнової кістки	20	50	70
Всього	270	370	640

Обстеження донора проводилося ортопедами-травматологами, які мали сертифікат трансплант-координатора.

Першим етапом для подальшого виготовлення кісткового алотрансплантата з головки стегнової кістки було отримання інформованої згоди від потенційного донора на забір кісткової тканини. Згоду пропонували підписати усім 640 пацієнтам-потенційним донорам. Нижче представлено приклад такої згоди:

ІНФОРМОВАНА ЗГОДА
донора клітин (тканин)
(вказати вид клітин або тип тканини)

Я,
_____
_____
П.І.Б., рік народження, серія і номер паспорта,
_____,
виданий ким і коли
що проживаю за адресою: _____,
телефон домашній: _____,
телефон мобільний: _____,
телефон службовий: _____,
на підставі одержаної повної об'єктивної інформації про можливі ускладнення для мого здоров'я, свідомо і без примусу надаю добровільну згоду на вилучення клітин (тканин) (*указати вид клітин або тип тканини*)_____ для виготовлення клітинних (тканинних) трансплантатів, які будуть застосовані з метою подальшого лікування пацієнтів.

Я мав(ла) бесіду з лікарем
_____
П.І.Б., посада

і поінформований(а) про мої права у зв'язку з виконанням донорських функцій; про те, що отримання грошової компенсації за донорський матеріал не допускається; про те, що я не можу визначати спосіб використання наданого донорського матеріалу та не можу вибирати конкретну особу, якій буде проводитись трансплантація; про те, що інформація стосовно мене (донора) та особи реципієнта клітинних і тканинних трансплантатів є конфіденційною і не розголошується.

Я поінформований(а) про можливі ускладнення, що можуть виникнути під час вилучення клітин (тканин). Я даю згоду на проведення процедур вилучення клітин (тканин) та призначення ліків, якщо в них виникне необхідність. Я також даю згоду на додаткові інвазійні маніпуляції (послідовні обстеження), у яких може виникнути потреба при вилученні клітин (тканин). Я зобов'язуюсь не висувати претензій з метою отримання інформації щодо подальшого застосування наданого мною анатомічного донорського матеріалу.

_____ _____
підпис донора

Дата _____

Згоду
посвідчено:_____
посада та підпис керівника закладу охорони здоров'я, на базі якого проводиться вилучення анатомічного матеріалу
Дата _____
МП

Як бачимо з представленого прикладу інформованої згоди, вже на етапі її отримання відкидається можливість грошової компенсації за донорську тканину та вплив донора на подальше використання біологічного матеріалу, що повністю відповідає чинному законодавству України.

За відсутності інформованої згоди подальші дії стосовно донора недоцільні.

Після отримання згоди на донорство наступним етапом є отримання даних стосовно можливості даної особи бути донором кісткової тканини.

Крок 2 відбору донора – заповнення потенційним донором опитувальника щодо можливості донорства. Матеріалом для розробки власного опитувальника став опитувальник, який використовується в клініці Charite (Берлін, Німеччина).

Для перекладу опитувальника українською мовою було залучено двох перекладачів, які незалежно один від одного провели переклад усіх наявних в анкеті запитань. При цьому основну увагу було приділено не стільки літературному та дослівному перекладу, скільки основній концепції та однозначності інтерпретації поставлених запитань. В подальшому було проведено порівняння двох отриманих варіантів перекладу та створення на їх основі проміжного варіанта опитувальника. Отриманий проміжний варіант було перекладено англійською мовою двома іншими перекладачами та проведено порівняння отриманого результату з оригіналом опитувальника.

За результатами обох перекладів були внесені відповідні корективи та сформовано україномовний варіант опитувальника з 30-ти запитань з варіантами відповіді «так» або «ні».

Даний опитувальник застосували у 100 пацієнтів, які брали участь у відборі донора кісткової тканини:

	так	ні
1.Чи хворіли Ви або хворієте зараз на гепатит В або гепатит С? Ви коли-небудь отримували позитивні результати лабораторних досліджень на гепатит В або гепатит С?	☐	☐
2.Чи хворіли Ви на гепатит А або гепатит Е протягом останніх 2 місяців або в даний? Чи є у вас або були раніше інші захворювання печінки неуточненого характеру (хронічний гепатит, цироз печінки)	☐	☐
3.Чи є ви носієм ВІЛ або HTLV-I\II (незалежно від того, чи проявлялись симптоми захворювання, чи ні)?	☐	☐
4.Чи існує у вас підвищений ризик інфікування на гепатит В або С, ВІЛ інфекцію, що спричинені вашим способом життя? (групи ризику: гомо- і бісексуальні чоловіки, повії чоловічої і жіночої статі, наркомани, ув'язнені, іммігранти з країн з високим рівнем захворюваності - особливо з регіонів адріатичного узбережжя та півдня Сахари, Карибського басейну, Південно-Східної Азії, Південної Америки; хворі на гемофілію і *Polytransfounded* також відносяться до групи високого ризику інфікування)	☐	☐
5.Чи були у вас сексуальні контакти протягом останніх 12 місяців з особами з груп ризику, згаданих вище? Чи відвідували ви один з регіонів ризику, згаданих вище, протягом останніх 12 місяців?	☐	☐
6.Чи хворіли ви на малярію? Ви народилися чи проживали в регіоні з малярією? Ви проживали в регіоні боротьби з малярією / тропіках протягом останніх 12 місяців перед нападом лихоманки?	☐	☐
7.Ви хворіли або лікуєтесь від важкої інфекційної хвороби (наприклад, токсоплазмоз, тропічні інфекційні захворювання, хвороби спричинені *найпростішими*, остеомієліт)?	☐	☐
8.Ви є безсимптомним носієм сальмонел?	☐	☐
9.Ви хворієте або лікувалися від туберкульозу? (ви можете стати донором, якщо від моменту одужання пройшло не менше 2-х років)	☐	☐

10.У вас або ваших родичів діагностували хворобу Крейтцфельда-Якоба? Ви страждаєте від різкої прогресуючої деменції або дегенеративних неврологічних захворювань невідомого походження?	☐	☐
11. Ви перебували в Сполученому Королівстві (Великобританії та Північної Ірландії) в період між 1.1.1980 і 31.12.1996 протягом 6 місяців або більше або вам виконували переливання крові / оперативні втручання в цих країнах?	☐	☐
12. Ви перенесли або хворієте на злоякісні пухлини (рак) кісток або інших органів з метастазами?	☐	☐
13.Чи страждаєте ви на цукровий діабет з дитинства або інсулінозалежний діабет протягом більш ніж 10 років?	☐	☐
14.Ви проходите гемодіаліз регулярно?	☐	☐
15.Ви страждаєте хворобою Паркінсона, розсіяним склерозом або іншими важкими неврологічними захворюваннями (наприклад: менінгіт, енцефаліт, хвороба Альцгеймера, поліневрити)?	☐	☐
16.Ви хворієте системними аутоімунними захворюваннями, які можуть мати негативний вплив на донорську тканину (наприклад: ревматоїдний артрит, саркоїдоз, поліхондріт, анкілозуючий спондиліту, синдрому Рейтера, ревматизм, червоний вовчак, хворобу Базедова (дифузний токсичний зоб) або міастенію	☐	☐
17.Чи виконувались вам великі оперативні втручання протягом останніх 6 місяців або ендоскопії / біопсії (шлунково-кишкового тракту, бронхів) з використанням гнучких інструментів? Вам проводились малі оперативні втручання протягом останніх двох тижнів або видалення зуба? Будь ласка, опишіть:	☐	☐
18.Вам проводилось переливання крові (алогенної крові) протягом останніх 6 місяців?	☐	☐
19.Ви коли-небудь отримували лікування гормонами гіпофіза людського походження (наприклад гормони росту) або вам проводили оперативні втручання з використанням експлантів людського або тваринного походження (твердої мозкової оболонки, серцевих клапанів або рогівки)?	☐	☐
20.Чи приймаєте ви імуносупресивні (імунодепрасанти) ліки?	☐	☐

21.Чи робили вам татуювання або проколювання шкіри (наприклад пірсинг) протягом останніх 6 місяців, які не були виконані лікарем? Чи отримували ви акупунктуру протягом останніх 6 місяців за межами лікарні або медичної установи?	☐	☐
22.Чи отримували ви травми забрудненими кров'ю голками протягом останніх 6 міс.?	☐	☐
23.Вас вакцинували проти сказу протягом останніх 12 місяців або ви отримували сироватку тваринного походження?	☐	☐
24.Вам проводили щеплення так званими «живими вакцинами» протягом останніх 4 тижнів (кір, епідемічний паротит, краснуха, поліомієліт, тиф, холера, жовта лихоманка, туберкульоз)? Вас вакцинували проти гепатиту В протягом останніх 3 тижнів?	☐	☐
25.Чи були у вас інфекційні захворювання протягом останніх 4 тижнів (викликані бактеріями, вірусами або грибами)? Якщо так, то які?	☐	☐
26.Ви хворіли захворюваннями, що супроводжуються лихоманкою, протягом останніх 4 тижнів або від діареєю неясного генезу?	☐	☐
27.Чи був у вас контакт з особами, хворими на інфекційні захворювання (наприклад краснуха, паротит, кір) протягом останніх 6 місяців?	☐	☐
28.Вам коли-небудь відмовляли у донорстві крові? Якщо так, то чому?	☐	☐
29.Чи вас кусала собака або інша дика тварини протягом останніх 3-х місяців?	☐	☐
30. Ви мали інтенсивний контакт з токсичними речовинами протягом останніх 2-х років? Якщо так, з якими?	☐	☐

Крок 3 – Аналіз рентгенограм пацієнта-потенційного донора (рентгенморфометричні параметри відбору донора). Визначали об'єм головки стегнової кістки, придатний для обробки та подальшого виготовлення трансплантата у пацієнтів-потенційних донорів, які пройшли попередні етапи відбору. За результатами рентгенморфометричного відбору для подальшої

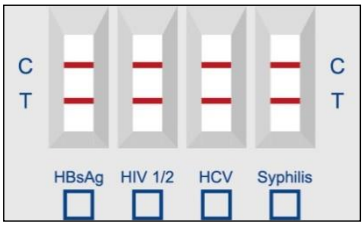
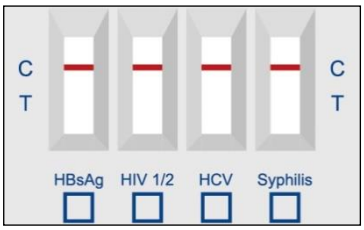
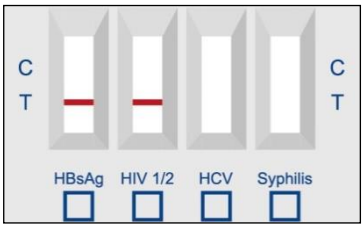
роботи відбирали пацієнтів, у яких згідно рентгенограм більше 2/3 головки не було ушкоджено патологічним процесом. При ураженні патологічним процесом більше 1/3 головки пацієнт-потенційний донор кісткової тканини виключався з подальшого відбору.

Крок 4 відбору – серологічне дослідження крові пацієнта-потенційного донора на інфекції ВІЛ, гепатити В та С, сифіліс використовували в усіх пацієнтів, що пройшли попередні етапи відбору. Використовували імунохроматографічний метод дослідження за допомогою тесту «Профітест» (New Vision Diagnostics, Китай). Визначали наступні інфекції:

- ВІЛ;
- Гепатит В (HBcAg HBsAg);
- Гепатит С;
- Сифіліс.

Інтерпретація результатів проводилася за таблицею 2.3:

Таблиця 2.3 – Інтерпретація результатів імунохроматографічного дослідження пацієнтів-потенційних донорів на наявність інфекцій

Позитивний		Дві забарвлені смуги з'являються протягом 15 хвилин, результат тестування є реактивним або позитивним і дійсним. Результат тестування може бути зчитаний як тільки чітка забарвлена смуга з'явиться в тестовій зоні.
Негативний		Якщо в тестовій зоні відсутня забарвлена смуга, а в контрольній зоні з'являється забарвлена смуга, результат тестування є нереактивним або негативним і дійсним.
Недійсний		Результат тестування вважається недійсним, якщо забарвлена смуга не формується в контрольній зоні. Необхідно повторити тестування, використовуючи новий виріб.

Чутливість та специфічність даного тесту є наступною: гепатит В (HBcAg HBsAg) – чутливість 99,5%, специфічність 100%; гепатит С – чутливість 100%, специфічність 99%; ВІЛ – чутливість та специфічність 100%; сифіліс – чутливість 100%, специфічність 99,9%. При наявності позитивного тесту пацієнт не може бути донором.

За результатами відбору матеріалом для виготовлення кісткових алотрансплантатів стали 213 головок стегнової кістки, видалених у пацієнтів при тотальному ендопротезуванні кульшового суглоба протягом 2016–2022 років в ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» та ортопедичному відділенні Київської міської клінічної лікарні №12.

2.3.2 Матеріали та методи для розробки протоколу і критеріїв якості та безпеки виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку

Для розробки протоколу і критеріїв якості та безпеки виготовлення кісткових скаффолдів використали головки стегнової кістки, вилучені у 213 пацієнтів-донорів кісткової тканини, та історії хвороби 209 пацієнтів, яким виконувалася трансплантація скаффолда. Технологія виготовлення алотрансплантатів полягає в термообробці кісткової тканини, а саме головок стегнової кістки, видалених у пацієнтів, яким проводилося первинне ендопротезування кульшового суглоба, при температурі до 82.5°C протягом 94 хвилин [177]. Система госпітального кісткового банку для термообробки складається з пристрою Lobator (скорочено від Low Temperature Incubator) (рис. 2.5а) та контейнера для обробки головки стегнової кістки (рис. 2.5б) (виробник TELOS GmbH, Німеччина).

Рисунок 2.5 – Система для термостерилізації алогенних головок стегнових кісток від живих донорів: а – Lobator, б – стерилізаційний контейнер

Мікробіологічне дослідження скаффолдів на стерильність проводили в лабораторії мікробіології ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України». Відбирали 0,5 мл розчину, в якому відбувалася стерилізація головки стегнової кістки (розчин Рінгера або 0,9% розчин натрію хлориду, Інфузія, Україна), з сорбованими під час обробки речовинами та вносили у флакони з поживним середовищем для аеробів, анаеробів та грибкової флори, який поміщали в аналізатор BACT/Alert (Biomeriaux, США). Експозиція відбувалася протягом 7 діб, визначався ріст аеробної, анаеробної флори та грибкової флори. Зазначена методика тестування на стерильність є обов'язковою вимогою, а також є валідованою.

2.3.3 Дослідження якісних характеристик скаффолдів, виготовлених за технологією госпітального кісткового банку *in vitro*

Для порівняння використовували 4 варіанти скаффолдів: керамічний гідроксилапатит – ГА (Біомін, Україна), бета-трикальційфосфат– ТКФ

(Ceramed, Португалія), алогенний кістковий матрикс, оброблений гамма-іррадіацією – АКМ ГІ (Cenobiologics, Великобританія) та алогенний кістковий матрикс оброблений за технологією локального кісткового банку шляхом термостерилізації – АКМ ТС (ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України", Україна) [111].

Також досліджували вплив на життєздатність і проліферацію фібробластів людини АКМ ТС, модифікованого шляхом знежирення (АКМ ТС+70% етанол). Матрикс поміщали у 70% етанол (Укрспирт, Україна) на 20 хв при кімнатній температурі. Після завершення експозиції матрикс тричі промивали стерильним 0,9%-им розчином натрію хлориду (Лекхім, Україна) і використовували в подальших експериментах.

Клітинна лінія. Нормальні фібробласти людини клітинної лінії М19, отримані з клітинного банку ліній з тканин людини та тварин ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України, культивували у флаконах для культури клітин (TPP, Італія та SPL, Корея) площею 25 см^2 в повному поживному середовищі RPMI-1640 (*PAA*, Austria) з 10 % ембріональної сироватки телят (*PAA*, Austria), 40 мкг/мл гентаміцину (Sigma, США) у зволоженій атмосфері з 5% CO_2 при 37ºС. Зміну середовища проводили кожні 2 доби. Після того, як клітини утворювали на субстраті щільний моношар (3–5 доба росту), здійснювали їх субкультивування, при цьому дисоціювали клітини за допомогою фосфатно-сольового буферу ФСБ з 1мМ ЕДТА (розчин Версена, БіоТестЛабораторія, Україна). В роботі використовували клітини 8 пасажу. Підрахунок клітин здійснювали за допомогою камери Горяєва з використанням вітального барвника – трипанового синього (Sigma, США) [178].

Збагачена тромбоцитами плазма. Для приготування ЗТП забирали 50 мл венозної крові донора у вакуумні пробірки з цитратом декстрози. Донорами виступали троє добровольців-чоловіків віком 37-39 років, без гострих та хронічних захворювань. Використовували режим центрифугування крові при 250xgпротягом 10 хв за допомогою центрифуги (MICROmed, Китай).

Плазму переносили в нові пробірки та центрифугували при 2300xg протягом 5 хв. Осад з тромбоцитами ресуспендували в 3 мл плазми, збідненої на тромбоцити. Вміст тромбоцитів у продукті становив більше 1 млн клітин на 1 мкл. ЗТП отримували безпосередньо перед додаванням до скаффолда за методикою Araki з певними модифікаціями [179-180].

Дизайн дослідження (табл. 2.4)**.**

I етап: дослідити вплив різних варіантів скаффолдів (за походженням та підготовкою біоматеріалу) на життєздатність нормальних фібробластів людини *in vitro* та відібрати скаффолд, який спричиняє найменш значний вплив на життєздатність досліджуваних клітин.

II етап: оцінка комплексного впливу скаффолдів, відібраних на I етапі, в комбінації зі ЗТП на життєздатність та проліферацію фібробластів людини.

III етап: дослідження проліферативної активності клітин M19 за оцінкою рівня експресії ядерного антигену проліферуючих клітин Кі-67 методом імуноцитохімічного аналізу за умов їх співкультивування із скаффолдами, обраними на I етапі, та в присутності ЗТП.

Оцінка життєздатності клітин. Фібробласти лінії M19 висівали на 96-лункові плоскодонні планшети для культур клітин (TPP, Italy) в повному поживному середовищі RPMI-1640 (*PAA*, Austria) з 10 % ембріональної сироватки телят (*PAA*, Austria), 40 мкг/мл гентаміцину в концентрації $5x10^4$/мл (200 мкл клітинної суспензії/лунку). Одночасно у відповідні лунки вносили різні варіанти біоматеріалу: скаффолди, ЗТП. Різні варіанти скаффолдів вносили в однакових кількостях за масою на лунки планшетів – 0,02 г на лунку 96-лункового планшету. Вміст ЗТП становив 10 або 20 % від загального об'єму поживного середовища в лунці. Клітини інкубували при температурі 37 ^{0}C в присутності 5 % CO_2 протягом 4 та 7 діб.

Таблиця 2.4 – Схема дизайну дослідження якісних характеристик різних типів скаффолдів

Етап №	Досліджені скаффолди	Досліджені клітини	Додаткові фактори	Час інкубації клітин, доба	Контрольна група	Досліджені параметри
I	• Гідроксилапатит (ГА) • Алогенний кістковий матрикс оброблений гамма-іррадіацією (АКМ ГІ) • Алогенний кістковий матрикс оброблений термічно (АКМ ТС) • Бета-трикальційфосфат (ТКФ)	Нормальні фібробласти людини лінії М19	-	*4, 7*	*Клітини М19 без скаффолдів*	*Оцінка життєздатності клітин колориметричним методом шляхом їх фарбування кристалічним фіолетовим (за числом живих клітин відносно контролю)*
II	• АКМ ГІ • АКМ ТС (без модифікації) • АКМ ТС+ 70 % спирт (модифікована)	Нормальні фібробласти людини лінії М19	-	*4, 7*	*Клітини М19 без скаффолдів і ЗТП*	*Оцінка життєздатності клітин колориметричним методом шляхом їх фарбування кристалічним фіолетовим (за кількістю живих клітин відносно контролю клітин М19 без скаффолдів і ЗТП)*
	• АКМ ГІ • АКМ ТС (без модифікації) • АКМ ТС+ 70 % спирт (модифікована)		ЗТП 10 %	*4, 7*	*М19 + ЗТП 10 %*	
	• АКМ ГІ • АКМ ТС (без модифікації) • АКМ ТС+ 70 % спирт (модифікована)		ЗТП 20 %	*4, 7*	*Клітини М19 + ЗТП 20 %*	
III	• АКМ ГІ • АКМ ТС (без модифікації) • АКМ ТС+70 % спирт (модифікована)	Нормальні фібробласти людини лінії М19	-	*4, 7*	*Клітини М19 без скаффолдів і ЗТП*	*Рівень експресії маркеру проліферації Кі-67 методом імуноцитохімічного аналізу*
	• АКМ ГІ • АКМ ТС (без модифікації) • АКМ ТС+ 70 % спирт (модифікована)		ЗТП 10 %	*4, 7*	*М19 + ЗТП 10 %*	
	• АКМ ГІ • АКМ ТС (без модифікації) • АКМ ТС+ 70 % спирт (модифікована)		ЗТП 20 %	*4, 7*	*М19 + ЗТП 20 %*	

Оцінку життєздатності клітин проводили в колориметричному тесті з використанням барвника кристалічного фіолетового (Sigma, США). Після закінчення інкубації з лунок планшету видаляли культуральне середовище, і скаффолди, наносили по 50 мкл/лунку барвника на 10 хв, після чого тричі промивали лунки проточною водою. Далі планшет висушували при кімнатній температурі протягом 3 годин і проводили елюцію барвника 96 % етиловим спиртом (100 мкл/лунку) протягом 10 хв, використовуючи міні-шейкер PSU-2T (Biosan, Латвія) при 300 об/хв. Результати фіксували за допомогою спектрофотометра Multiskan Plus (Thermo Labsystems, Фінляндія) при довжині хвилі 540 нм [181]. Як контроль використовували лунку без клітин, але з поживним середовищем, яка зазнавала стандартної процедури фарбування. Показник життєздатності клітин (X) у кожній лунці планшета виражали у відсотках, розраховуючи за формулою 2.1:

$$X = (A_1/A_0)\times 100\% \qquad (2.1)$$

де A_0 – середнє значення оптичної щільності в лунках контролю клітин,

A_1 – значення оптичної щільності у кожній лунці експериментальної групи або контролю клітин (для визначення SD групи контроля клітин).

Визначення проліферативної активності клітин. Фібробласти лінії M19 висівали на 24-лункові плоскодонні планшети для культур клітин (TPP, Italy) в повному поживному середовищі RPMI-1640 (*PAA*, Austria) з 10 % ембріональної сироватки телят (*PAA*, Austria), 40 мкг/мл гентаміцину в концентрації 3×10^4/мл (1 мл клітинної суспензії/лунку). Одночасно у відповідні лунки вносили різні варіанти скаффолдів в однакових кількостях за масою – 0,2 г на лунку. Вміст ЗТП становив 10 або 20 % від загального об'єму поживного середовища в лунці. Клітини інкубували при температурі 37 ^{0}C в присутності 5% CO_2 протягом 4 та 7 діб.

Приготування цитологічних препаратів. Для приготування цитологічних (цитоспінових) препаратів після співкультивування фібробластів людини із скаффолдами в присутності ЗТП готували суспензію клітин у фізіологічному розчині в концентрації $1{,}0\times10^6$ клітин/мл. В цитоцентрифужні

кювети вносили по 35 мкл суспензії клітин та центрифугували протягом 10 сек. при 180 xg, висушували при кімнатній температурі та зберігали при -20°С.

Імуноцитохімічний аналіз. Для проведення імуноцитохімічного аналізу використовували цитоспінові препарати, які поміщали у фіксуючий розчин (метанол + ацетон: 1:1) на 2 год. при -20 ^{0}С, після чого інкубували 20 хв з 1% розчином бичачого сироваткового альбуміну (BSA, США). Потім на 1 годину наносили моноклональні антитіла проти ядерного антигену проліферуючих клітин – Ki-67 (Thermo Scientific, США). Для візуалізаціїзастосовували систему PolyVue, яка містить детекційні антитіла, кон'юговані з пероксидазою, активність якої виявляли за допомогою субстрату діамінобензидину (ThermoScientific, США). Після проведення імуноцитохімічної реакції препарати промивали проточною водою та дофарбовували розчином гематоксилін-еозину 15-30 сек (Thermo Scientific, США). Рівень експресії оцінювали класичним методом за шкалою H-score: S= 1xA+2xB+3xC, де S – показник «H-Score», значення якого знаходиться у межах від 0 (білок не експресується) до 300 (сильна експресія у 100 % клітин); A – % клітин із забарвленням слабкої інтенсивності, B – % клітин із забарвленням помірної інтенсивності, C – % клітин із забарвленням сильної інтенсивності за допомогою мікроскопіювання (використовували мікроскоп AxioStarPlus (Carl Zeiss, Німеччина) [182].

Статистичні методи. Розрахунки середнього арифметичного значення досліджуваних показників (M) і середнього квадратичного відхилення (standard deviation - SD) виконали за допомогою програмного пакету Excel 2016 (Microsoft. USA). Експерименти проводили тричі. Остаточні розрахунки досліджених показників (M ± SD) проводили на основі середнього арифметичного значення кожного із 3-х експериментів (n = 3). Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою математичної програми медико-біологічної статистики STATISTICA 6.0 з використанням t-критерію Ст'юдента (розподіл показників був нормальним); достовірними

вважали відмінності з вірогідністю не менше 95 % ($p < 0,05$).

2.4 Дизайн дослідження для розробки методології обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій

Для розробки методології обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів були використані дані історій хвороби 485 пацієнтів з остеоартрозом (336 пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба, серед них 97 чоловіків та 239 жінок, у тому числі у 119 пацієнтів був двобічний процес, та 149 пацієнтів з остеоартрозом кульшового суглоба, серед них 60 чоловіків та 89 жінок, в тому числі 56 пацієнтів був двобічний процес) та 182 пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів (61 пацієнт з асептичним некрозом ділянки колінного суглоба, серед них 22 чоловіка та 39 жінок, в тому числі у 14 пацієнтів був двобічний процес, та 121 пацієнт з асептичним некрозом кульшових суглобів, серед них 80 чоловіків та 41 жінка, в тому числі у 66 пацієнтів був двобічний процес), яким проводилося лікування у відділенні тканинної та клітинної терапії ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» в період з 2015 по 2024 роки.

Вік пацієнтів складав від 18 до 88 років. Середній вік склав 52,7±6,3 роки.

Структура груп пацієнтів за нозологіями представлена на рис. 2.6.

На рис. 2.7–2.8 представлено розподіл пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів за статтю та варіантом ураження (односторонній або двосторонній):

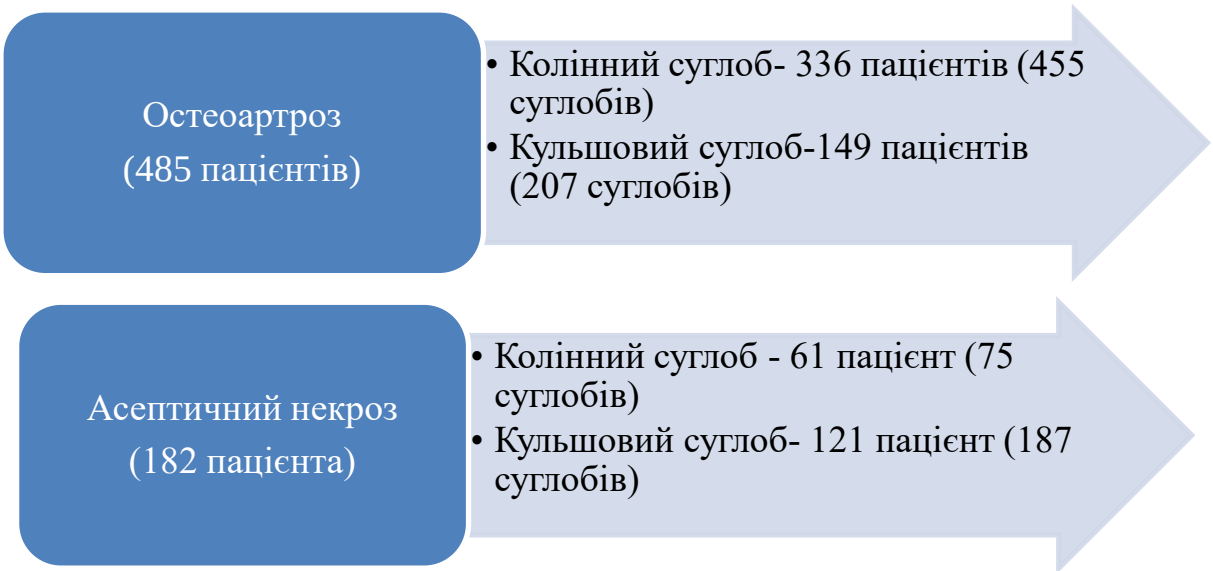


Рисунок 2.6 – Структура пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, яким проводилося клінічне обстеження за допомогою опитувальників якості життя при застосуванні регенеративних технологій

На рис. 2.7–2.8 представлено розподіл пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів за статтю та варіантом ураження (односторонній або двосторонній):

Рисунок 2.7 – Структура розподілу пацієнтів з остеоартрозом за статтю та варіантом ураження (односторонній або двосторонній)

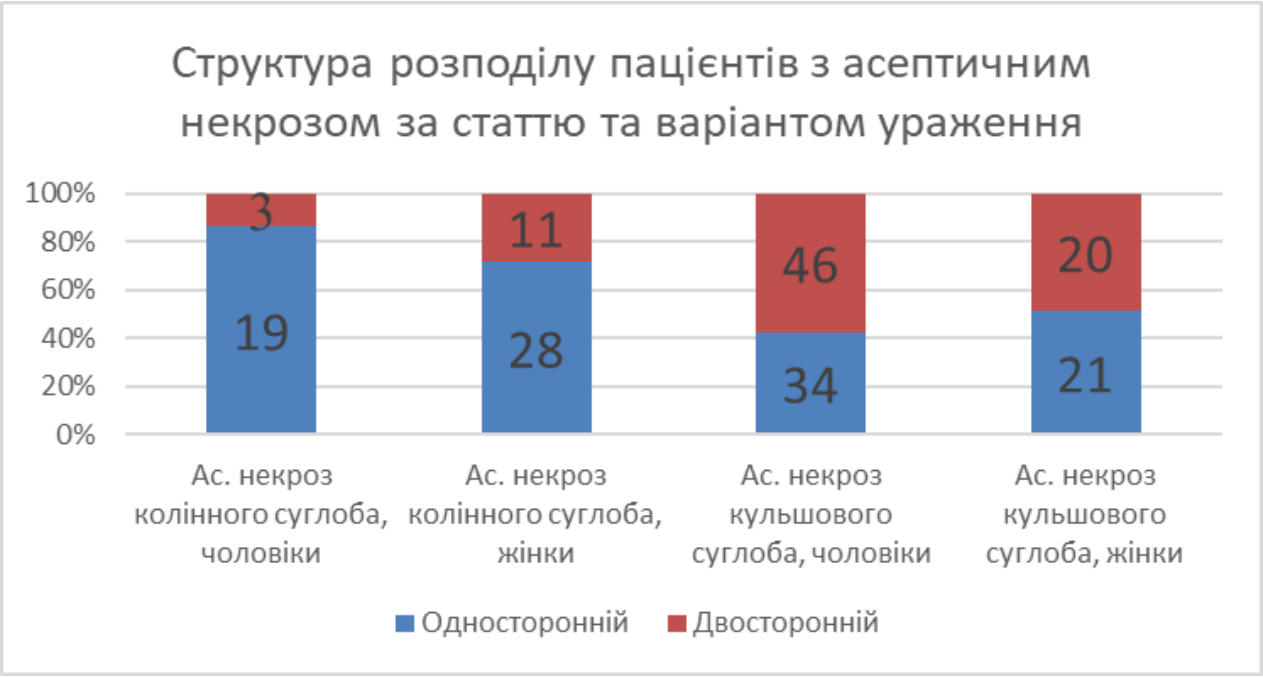


Рисунок 2.8 – Структура розподілу пацієнтів з асептичним некрозом за статтю та варіантом ураження (односторонній або двосторонній)

2.4.1 Матеріали та методи для розробки методології клінічного обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій

Усі пацієнти з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів були опитані стосовно якості їх життя.

Оцінка вираженості больового синдрому проводилась за допомогою шкали Visual analogue scale (VAS, за 10-ти бальною шкалою) – ВАШ.

Для оцінки якості життя пацієнтів використовували наступні шкали [183]:

- Для оцінки колінного суглоба
  - Візуальна аналогова шкала болю (ВАШ)
  - Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)
  - Oxford Knee Score (OKS)
  - Western Ontario and McMasters University Osteoarthritis Index (WOMAC)
  - Tegner Lysholm Knee Scoring Scale

- Для оцінки кульшового суглоба
  - ВАШ
  - Hip disability and Osteoarthritis Outcome Score (HOOS)
  - Oxford Hip Score (OHS)
  - WOMAC
  - Harris Hip Score (HHS)

Зазначені опитувальники було переведено на українську мову двома професійними перекладачами, які виконували переклад незалежно один від одного. В подальшому було обрано оптимальні варіанти перекладу з урахуванням найкращого розуміння пацієнтами поставлених в опитувальнику запитань.

Україномовні версії шкал для оцінки функції колінного суглоба представлено в додатку 4.

2.4.2 Матеріали та методи для розробки методології лабораторного обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій

Лабораторне обстеження проводили в лабораторії біохімії сполучної тканини та клінічних аналізів ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» (сертифікат визнання вимірювальних можливостей № ПТ-164/23 від 11.05.2023 року). Усім пацієнтам з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів (667 пацієнтів), незалежно від варіанту застосування регенеративних технологій проводили загальноклінічний аналіз крові, при наявності в анамнезі у пацієнта хронічних супутніх захворювань, проводили визначення показників системи згортання крові та біохімічних показників сироватки крові. Показники, які визначалися, представлені в додатку 5.

36 пацієнтам, у яких використовували біотехнологічні продукти аспірату

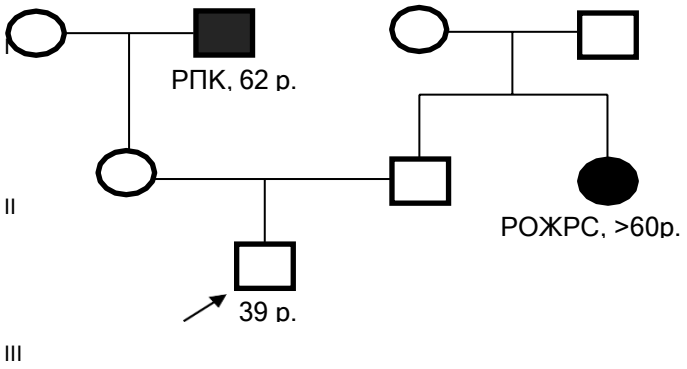
кісткового мозку та стромально-васкулярної фракції жирової тканини, проводили онкоскринінг (лабораторія ТОВ клініка персоналізовваного дизайну діагностики і терапії «Онкотераностика», ліцензія: наказ МОЗ №256 від 10.03.2017 року), що складався з двох етапів:

1. Аналіз клініко-генеалогічних даних.
2. Дослідження профілю експресії мікроРНК для скринінгу найбільш розповсюджених новоутворень.

Представляємо приклад аналізу клініко-генеалогічних даних пацієнта (рис. 2.9):

АНАЛІЗ КЛІНІКО-ГЕНЕАЛОГІЧНИХ ДАНИХ

На основі аналізу клініко-генеалогічних даних, викладених пробандом Пацієнт С, історія хвороби складено родовід трьох поколінь його сім'ї.



РПК - рак прямої кишки;
РОЖРС - рак органів жіночої репродуктивної системи.

Рисунок 2.9 – Приклад аналізу клініко-генеалогічних даних пацієнта, якому виконувався онкоскринінг з метою виявлення протипоказань до застосування регенеративних технологій

Легенда родоводу: пробанд – практично здоровий, має хворих на рак родичів II ступеня спорідненості: тітка по батьківській лінії (рак органів жіночої репродуктивної системи), дід по материнській лінії (рак прямої кишки). **Висновок**. Згідно інформації отриманої від пробанда випадки раку у родичів є спорадичними.

Другим етапом проводили дослідження профілю експресії мікроРНК 21, мікроРНК 182 та мікроРНК 214 для скринінгу найбільш розповсюджених новоутворень.

Для дослідження експресії панелі мікроРНК у сироватці крові застосовували метод зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР) у реальному часі на системі виявлення AppliedBiosystems 7500 HT FastReal-Time PCR System з використанням TaqManMicroRNAAssay. Виділення тотальної РНК з сироватки проводили за допомогою комерційного набору “ NucleoSpin®miRNAPlasma” (MACHEREY-NAGEL, Німеччина). Загальну РНК виділяли з клітин за допомогою комерційного набору “Рибо-золь” (Амплісенс). Кількість виділеної РНК визначали на спектрофотометрі „NanoDrop 2000c Spectrophotometer” (ThermoScientific, USA). кДНК синтезували з використанням набору для зворотньої транскрипції TaqMan. Отриману в результаті зворотної транскриптазної реакції кДНК використано в кількісній ПЛР, яку проводили в трьох повторах. Відносну експресію досліджуваних мікроРНК обраховували за методикою Livak (2008). Для нормалізації результатів було обрано рівень експресії мікроРНК RNU48. Середнє для триплікатів граничне значення циклу (Ct) досліджуваної мікроРНК нормалізували відносно Ct ендогенного контролю. Зміну експресії мікроРНК в певну кількість разів порівняно з контролем обчислювали за формулою 2-ΔΔCt. Результати обробляли в програмі MicrosoftExcel і представляли у графічному вигляді.

2.4.3 Матеріали та методи інструментального обстеження пацієнтів при застосуванні регенеративних технологій та розробки критеріїв якості та безпеки введення біотехнологічних продуктів

Інструментальне обстеження пацієнтів проводили у відділі функціональної діагностики ДУ «НІТО НАМН України» (сертифікат № ПТ 165/23 від 11.05.2023 року).

Рентгенологічне обстеження. При обстеженні кульшового суглоба виконували рентгенографію в прямій проекції та проекції за Лауенштейном. При обстеженні колінного суглоба виконували рентгенографію в прямій та боковій проекції без навантаження та в навантаженні. Обстеження проводилося на рентгенапараті Multix Pro Top (U = 90 кВ).

Ультразвукове обстеження. Для ультразвукового обстеження використовували апарати Vinno 6 та Sonoscape Portable. При обстеженні кульшового суглоба використовували наступні позиції [184]:

- передня діагональна площина;
- передня поперечна площина;
- латеральна (проксимальна) поздовжня площина;
- латеральна (дистальна) поздовжня площина;
- задня поздовжня площина.

При обстеженні колінного суглоба використовували наступні позиції:

- наднадколінникова поздовжня площина;
- наднадколінникова поперечна площина;
- наднадколінникова поперечна тангенціальна площина;
- піднадколінникова поздовжня площина;
- піднадколінникова поперечна площина;
- підколінна центральна поздовжня площина;
- підколінна медіальна поздовжня площина;
- підколінна латеральна поздовжня площина;
- підколінна поперечна проксимальна площина;

- підколінна поперечна дистальна площина;
- латеральна поздовжня площина;
- медіальна поздовжня площина.

Магнітно-резонансна томографія. Протокол МРТ-сканування колінного суглоба включав наступні режими – T1W1, PDfs зважені сагітальні, корональні та аксіальні томограми колінного суглоба.

Протокол МРТ-сканування кульшового суглоба включав T1, PDfs зважені сагітальні, корональні та аксіальні томограми кульшових суглобів.

Дослідження проводилося на 1,5 Тл МРТ системі Магнетом Аванто fit (виробництва Siemens, Німеччина).

Для рентгенографічної та рентгеноскопічної навігації під час введення біотехнологічних продуктів використовували С-дугу Siemens. Для візуалізаціїмісця введення біотехнологічного продукту застосовували контрастну речовину Ультравіст 300 (Bayer Consumer Care).

2.5 Дизайн дослідження для розробки методології застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів

2.5.1 Матеріали та методи для дослідження скелетної зрілості, як біомеркера встановлення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів

Групу дослідження для розробки методології застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку склали 157 пацієнтів з патологією кульшових суглобів (86 хлопчиків та 71 дівчинка) (дисплазія кульшових суглобів, хвороба Пертеса, юнацький епіфізеоліз головки стегнової кістки, асептичний некроз головки стегнової кістки та пацієнти, які

обстежувалися на предмет скарг на біль в ділянці кульшового суглоба) та 129 пацієнтів з захворюваннями колінних суглобів (58 хлопчиків та 71 дівчинка) (хвороба Блаунта, осьові деформації нижніх кінцівок, пошкодження менісків та пацієнти, які обстежувалися на предмет скарг на біль в ділянці колінного суглоба) віком від 10 до 18 років (рис. 2.10):

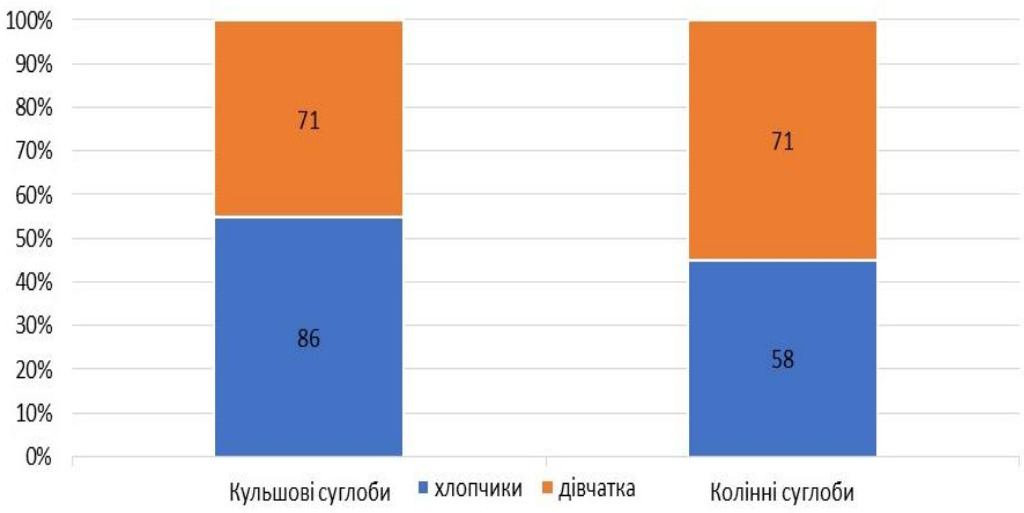


Рисунок 2.10 – Діаграма розподілу пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів для розробки методології застосування регенеративних технологій

Використовували наступні методи дослідження:

- клінічне дослідження;
- визначення якості життя пацієнтів за опитувальниками;
- визначення скелетної зрілості за рентгенограмами кульшових та колінних суглобів.

Клінічне обстеження полягало у виявленні наступних параметрів, які увійшли до тематичної карти пацієнта:

КАРТА ОБСТЕЖЕННЯ ТЕМАТИЧНОГО ХВОРОГО №_____

Лікувальний заклад: Державна установа «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»

Карта стаціонарного хворого №_____

Діагноз:_____

Дата прибуття до клініки:_____

Дата виписки:_____

Дата заповнення_____

I. Паспортні відомості

1. ПІБ_____

2. Стать: _____ 1чол._____ 2.жін._____

3. Дата народження:_____

4. Вік (років)_____

5. Місце народження_____

6. Національність_____

II. Скарги хворого (потрібне підкреслити)

1. Біль у нижній кінцівці: так 1, ні 2
2. Порушення ходи: так 1, ні 2
3. Обмеження рухів: так 1, ні 2
4. Вкорочення кінцівки так 1, ні 2

III. Фактори ризику та анамнез життя (потрібне підкреслити)

1. Наявність системних захворювань у родині: так 1, ні 2

Якщо так, то яких_____

2. Наявність хворих на остеоартроз у родині так 1, ні 2

Якщо так, то у кого_____

3. Наявність слабкості зв'язкового апарату у родичів так 1, ні 2

Якщо так, то у кого_____

IV. Анамнез захворювання:

1. Початок захворювання (рік, місяць):_____
2. Тривалість захворювання (місяців)_____
3. Попереднє лікування:_____

V.ОБ´ЄКТИВНЕ ОБСТЕЖЕННЯ (заповнюється лікарем)

Дата_____

1. Конституція: нормостенічна, гіперстенічна, гіпостенічна
2. Зріст: _ _ _ см.
3. Вага: _ _ _ кг.
4. Наявність слабкості зв'язкового апарату так 1, ні 2
5. Стадія статевого розвитку за Таннером_____
6. Скелетна зрілість кульшових (колінних) суглобів на момент початку захворювання (балів)_____

8.Скелетна зрілість кульшових (колінних) суглобів на момент поступлення (балів)_____

Для оцінки якості життя у пацієнтів дитячого та підліткового віку з патологією кульшового суглоба користувалися розробленим нами опитувальником [185] (додаток 4):

Для оцінки якості життя у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями колінного суглоба використовували шкалу KOOS-Child [183], перекладену на українську мову (додаток 4).

Наступним етапом було визначення скелетної зрілості колінного та кульшового суглобів за їх рентгенограмами.

Визначення скелетної зрілості колінних та кульшових суглобів проводили за розробленими нами методиками [142, 186]. Індикатори оцінки скелетної зрілості за рентгенограмами кульшового та колінного суглобів представлено в додатку 6.

Для визначення періоду статевого розвитку використовували алгоритм оцінки скелетної зрілості (рис. 2.11):

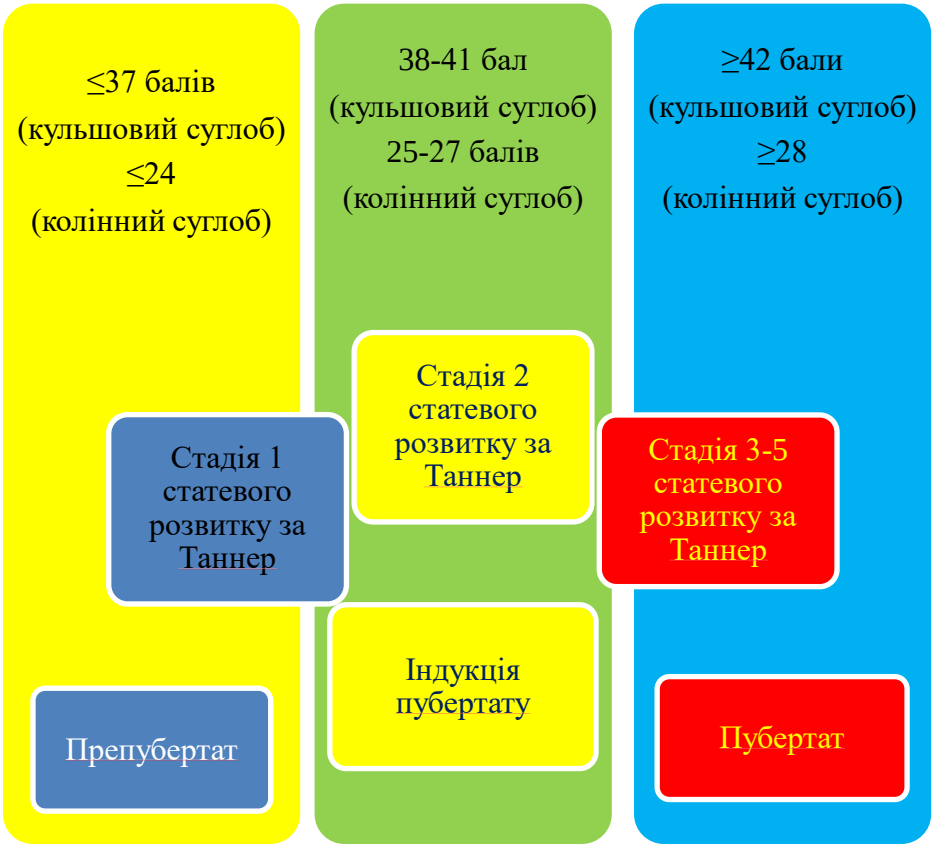


Рисунок 2.11 – Схема алгоритму оцінки скелетної зрілості у пацієнтів підліткового віку

2.5.2 Матеріали та методи для епігенетичного дослідження пацієнтів підліткового віку з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки, як фактором ризику розвитку остеоартрозу кульшового суглоба

У даному дослідженні взяли участь 26 пацієнтів з ЮЕГСК (15 дівчаток та 11 хлопчиків) (рис. 2.12),

Рисунок 2.12 – Діаграма розподілу пацієнтів з ЮЕГСК, які брали участь в епігенетичному дослідження за статтю: 1 – дівчатка; 2 – хлопчики

Розподіл пацієнтів залежно від періоду статевого розвитку представлено на рис. 2.13.

Рисунок 2.13 – Діаграма розподілу пацієнтів з ЮЕГСК, які брали участь в епігенетичному дослідженні залежно від періоду статевого розвитку:1 – препубертат, 2 – індукція пубертату, 3 – пубертат та постпубертат

У 18 пацієнтів, які взяли участь в даному дослідженні, епігенетичне обстеження було проведене в доопераційному періоді, у 8 пацієнтів – в післяопераційному.

Матеріалом для епігенетичного дослідження, а саме дослідження експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК, стала венозна кров пацієнтів.

Венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти (11,7 мМ) в якості антикоагулянту («Sarstedt», Німеччина), заморожували та зберігали при температурі -20 ^{0}С в період від 1 місяця до 1 року.

Визначали експресію мікроРНК-21. Для дослідження експресії панелі мікроРНК-21 у сироватці крові застосовували метод зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції (ЗТ-ПЛР) у реальному часі на системі виявлення AppliedBiosystems 7500 HT FastReal-Time PCR System з використанням TaqManMicroRNAAssay.

Виділення тотальної РНК з цільної крові проводили за допомогою комерційного набору «Рибо-золь» (Амплісенс). Кількість виділеної РНК визначали на спектрофотометрі «NanoDrop 2000c Spectrophotometer» (ThermoScientific, USA). кДНК синтезували з використанням набору для зворотної транскрипції «Реверта-L» (Амплісенс). Отриману в результаті зворотної транскриптазної реакції кДНК використано в кількісній ПЛР. Відносну експресію досліджуваних мікроРНК-21 обраховували за методикою Livak. Для нормалізації результатів було обрано рівень експресії мікроРНК-21 RNU48. Граничне значення циклу (Ct) досліджуваної мікроРНК-21 нормалізували відносно Ct ендогенного контролю. Показник експресії мікроРНК-21 обчислювали за формулою $2^{-\Delta Ct}$. Результати обробляли в програмі Microsoft Excel і представляли у графічному вигляді.

2.6 Дизайн дослідження для аналізу результатів застосування різних варіантів регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів

Усі пацієнти проходили лікування у відділенні тканинної та клітинної терапії ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» в період з 2016 по 2024 роки.

2.6.1 Аналіз результатів лікування пацієнтів з остеоартрозом кульшових та колінних суглобів в різних групах застосування регенеративних інтервенційних технологій

Першу групу аналізу склали 80 пацієнтів з 2-3 ст. остеоартрозу кульшового та колінного суглобів. З них - 27 чоловіків та 53 жінок. Вік пацієнтів складав від 42 до 75 років.

Всі пацієнти були анамнестично опитані за шкалами ВАШ (візульно-аналогова шкала), WOMAC (The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index) та альгофункціональною шкалою Лекена.

Для визначення стадії артрозу використовували рентгенографічне дослідження суглобів в стандартних проекціях, яке виконували у відділі функціональної діагностики ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» (сертифікат визнання вимірювальних можливостей № ПТ-165/23 від 11.05.2023 року).

Серед 80-ти пацієнтів з остеоартрозом, 21 хворий мав остеоартроз кульшового суглоба 2 стадії за даними рентгенограм, 40 пацієнтів - остеоартроз колінних суглобів 2 стадії, та 19 пацієнтів - остеоартроз колінних суглобів 3 стадії.

Динаміку результатів лікування визначали за опитувальниками: до початку лікування, через 14 днів, через 21 день, 3 місяці, 6 місяців та 9 місяців.

При лікуванні пацієнтів застосовувались наступні варіанти регенеративних ін’єкційних технік: гіалуронова кислота – 16 пацієнтів, ЗТП-терапія – 34 пацієнти, ЗТП-терапія + гіалуронова кислота з низькою молекулярною масою – 10 пацієнтів, лікування аутологічним кріолізатом тромбоцитів (АКТ) – 10 пацієнтів, АКТ-терапія + гіалуронова кислота з низькою молекулярною масою – 10 пацієнтів.

Другу групу склали 48 пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба 1-3 стадії (25 чоловіків та 23 жінки), середній вік на початок лікування у пацієнтів з гонартрозом 1 стадії складав 40,5 ± 7,3 роки, у пацієнтів з 2 стадією – 50,6 ± 9,4 роки, у пацієнтів з 3 стадією – 61,9 ± 7,1 рік. Залежно від засобу, що використовувався, пацієнтів було розподілено на дві групи: до першої групи увійшли 27 пацієнтів, у яких застосовували Л-ЗТП, до другої – 21 пацієнт, у яких застосовували ЗЛ-ЗТП (табл. 2.5).

З метою лікування проводили внутрішньосуглобові введення 4-5 мл препарату під ультрасонографічним контролем в колінний суглоб та 10-12 мл збідненої плазми параартикулярно з інтервалом від 7 до 14 діб між ін'єкціями. Загальний курс складався з 5 ін'єкцій.

Таблиця 2.5 – Розподіл досліджуваних пацієнтів з гонартрозом по групах

Стадія захворювання (за J. Kellgren)	Всього	Групи пацієнтів	
		Л-ЗТП	ЗЛ-ЗТП
1	15	9	6
2	18	10	8
3	15	8	7
Всього	48	27	21

Для оцінки результатів лікування використовувались шкали та опитувальники: візуальна аналогова шкала (ВАШ) болю, Lysholm, Oxford. Оцінка результатів проводилась перед початком лікування, через 2–5 днів після

першої ін'єкції, потім – кожні 2 тижні до закінчення лікування і кожні 3 місяці після його завершення протягом не менше 12 місяців від початку лікування.

Числові характеристики досліджуваних показників опрацьовано методами описової статистики та представлено як середні значення та стандартні відхилення. Як критерій достовірності використовували параметричний F-критерій Фішера після проведення тесту на нормальність розподілу Шапіро-Вілка. Статистично значущою вважалась різниця при $p \leq 0,05$. Для визначення взаємозв'язків між показниками використовували коефіцієнт кореляції Пірсона.

Третю групу дослідження склали 120 пацієнтів, яким проводилося лікування пошкоджень менісків за допомогою регенеративних ін'єкційних технік. Пацієнти були поділені на 2 підгрупи: для 1 підгрупи (n=58) курс лікування складався з 3 процедур внутрішньосуглобових ін'єкцій аутологічної ЗТП; для 2 підгрупи (n=62) – курс лікування становив 4–6 ін'єкцій.

Оцінку результатів лікування проводили на підставі отриманих даних анкетування ВАШ, шкали Oxford Knee Score (OKS) та анкетування WOMAC. Оцінка стану пацієнтів здійснювалася на момент звернення через 3 міс., 12 міс. та 2 роки після проходження курсу клітинної терапії, відповідно.

За даними історій хвороби в 1-ій підгрупі у 29 (50%) пацієнтів виявлено пошкодження заднього рогу медіального меніска, у 19 (32,7%) пацієнтів – ушкодження тіла медіального меніска та у 10 (17,3%) пацієнтів – ушкодження тіла та заднього рогу медіального меніска. У 2-ій підгрупі у 33 (53,2%) пацієнтів підтверджені ушкодження заднього рогу медіального меніска, у 21 (33,9%) пацієнта – ушкодження тіла медіального меніска та у 8 (12,9%) пацієнтів – ушкодження тіла та заднього рогу медіального меніска (табл. 2.6).

Таблиця 2.6 – Порівняльна характеристика пацієнтів, які проходили курс регенеративної ін'єкційної терапії (n=120)

Параметри	Характеристики	підгрупа 1 (n = 58)	підгрупа 2 (n = 62)
Вік (років), ($\bar{x}$±S))		39 ± 7,3	37 ± 8,1
Стать [n (%)]	чол.	30 (51,7)	29 (46,8)
	жін.	28 (48,3)	33 (53,2)
Термін спостереження	міс.	24± 0,5	24± 0,7
Локалізація пошкоджень [n (%)]	задній ріг медіального меніска	29 (50)	33 (53,2)
	тіло медіального меніска	19 (32,7)	21 (33,9)
	тіло та задній ріг медіального меніска	10 (17,3)	8 (12,9)
Класифікація пошкоджень меніска за Stoller	2 ст. за Stoller	39 (67,2)	36 (58,1)
	3 ст. за Stoller	15 (25,9)	20 (32,3)
	повний розрив	4 (6,9)	6 (9,6)

Серед обстежених пацієнтів 1-ої та 2-ої підгрупи всі відмовилися від оперативного лікування.

Лікування проводилося ЗТП у поєднанні з низькомолекулярною гіалуроновою кислотою, яка використовувалася як скаффолд (носій). Інтервал між ін'єкціями складав 2 тижні. За 10 днів до початку процедур та протягом усього періоду лікування було рекомендували утриматися від прийому протизапальних та знеболювальних препаратів. У період лікування всім пацієнтам було рекомендовано дотримання обмежень фізичної активності: спуск/підйом сходами; підняття ваги; перерозгинання у колінних суглобах; глибокі присідання.

Четверту групу дослідження склали 47 пацієнтів з остеоартрозом

колінного суглоба 1 стадії (17 пацієнтів), 2 стадії (21 пацієнт), 3 стадії (9 пацієнтів) (таб. 2.7). Середній вік на момент лікування складав 44 роки (від 22 до 77 років). Хворих жіночої статі було 20, чоловічої – 27. Використовували наступні варіанти біотехнологічних продуктів: гіпертонічний розчин декстрози (РД) (12,5 %) у 15 пацієнтів, збагачену тромбоцитами плазму (ЗТП) – у 32 пацієнтів.

Кількість процедур становила від 2 до 5 ін´єкцій з інтервалом між введеннями від 7 до 30 діб.

Таблиця 2.7 – Розподіл пацієнтів четвертої групи дослідження за варіантом біотехнологічного продукту, який був застосований, та стадією захворювання

	Варіант біотехнологічного продукту			
Стадія захворювання (J.H. Kellgren)	Декстроза	ЗТП	АМК	Всього
1	6	10	1	17
2	5	14	2	21
3	4	5	0	9
Всього	15	29	3	47

Для оцінки якості життя протягом лікування використовувались шкали та опитувальники ВАШ, Lysholm, Oxford. Результати лікування оцінювались як відмінні, добрі, задовільні та незадовільні. Оцінка результатів проводилась до початку лікування, через 2–5 днів після першої ін'єкції, потім – кожні 2 тижні.

П'яту групу склали 24 пацієнта з остеоартрозом колінного суглоба, яким проводилося лікування аутомезоконцентратом тромбоцитів (АМК) виробництва біотехнологічної компанії «Смартселл». Середній вік пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба на початок лікування склав 43,4±8,4 роки.

Хворих жіночої статі було 14, чоловічої – 10. Гонартроз 1 стадії був визначений у 11 пацієнтів, 2 стадії – у 9 пацієнтів, 3 стадії – у 4 пацієнтів.

Шосту групу дослідження склали 154 пацієнти з 1–2 стадією остеоартрозу колінного суглоба та пошкодженнями менісків. Всі пацієнти були проінформовані та отримано згоду на участь в дослідженні.

Розподіл у дослідженні визначався рандомним способом на 3 досліджувані групи, залежно від варіанту ушкодження меніска колінного суглоба: група №1 пацієнтів (n=53), віковий діапазон від 18 до 68 років (42±16 років, ($\bar{x}$±S)), розподіл за статтю – 20 жінок та 33 чоловіків, у 40 (75,4%) пацієнтів виявлено ушкодження медіального меніска, у 6 (11,3 %) пацієнтів – ушкодження латерального меніска та у 7 (13,3%) пацієнтів – ушкодження латерального та медіального менісків. За локалізацією у 44 (83%) – ушкодження заднього рогу, у 9 (17%) ушкодження тіла та заднього рогу меніска. За класифікацією у 41 (77,3%) пацієнтів ушкодження за Stoller – 2ст. та у 12 (22,7%) пошкодження за Stoller – 3ст.

В групі №2 (n=49), де віковий діапазон пацієнтів становив від 26 до 71 років (34±18 роки, ($\bar{x}$±S)) увійшли 24 жінки і 25 чоловіків, за ознаками МРТ у 41 (83,6%) пацієнта виявлено пошкодження медіального меніска, і у 8 (16,4%) пацієнтів – пошкодження латерального та медіального менісків. За локалізацією у 38 (77,6%) – ушкодження заднього рогу, у 11 (22,4%) пошкодження тіла та заднього рогу. За класифікацією Stoller у 35 (71,4%) пацієнтів виявлено 2ст. пошкодження та у 14 (28,6%) пошкодження 3ст.

В групі №3 (n=52) вік пацієнтів становив від 28 до 70 років (36±21 років, ($\bar{x}$±S)), серед яких 33 жінки та 19 чоловіків; у 45 (86,5%) пацієнтів виявлено ушкодження медіального меніска, у 3 (5,8%) пацієнтів – ушкодження латерального меніска та у 4 (7,7%) пацієнтів – пошкодження латерального та медіального менісків. За локалізацією у 40 (76,9%) – пошкодження заднього рогу, у 12 (23,1%) – пошкодження тіла та заднього рогу. За класифікацією у 42 (80,8%) пацієнтів було діагностовано пошкодження за Stoller – 2ст. та у 10 (19,2%) пошкодження за Stoller – 3ст. (табл. 2.8).

Таблиця 2.8 – Розподіл пацієнтів та характеристика груп обстеження (n=154)

Параметри		Група №1 (n = 53)	Група №2 (n = 49)	Група №3 (n = 52)
Вік (років), ($\bar{x}$±S))		42±16	34±18	36± 21
Стать [n (%)]	Чол.	33 (62,2%)	25 (51%)	19 (36,5%)
	Жін.	20 (37,8%)	24 (49%)	33 (63,5%)
Локалізація ушкодження, [n (%)]	медіальний меніск	40 (75,4%)	41 (83,6%)	45 (86,5%)
	латеральний меніск	6 (11,3%)	–	3 (5,8 %)
	пошкодження обох менісків	7 (13,3%)	8 (16,4%)	4 (7,7%)
Класифікація ушкоджень за Stoller, [n (%)]	2 ст.	41 (77,3%)	35 (71,4%)	42 (80,8%)
	3 ст.	12 (22,7%)	14 (28,6%)	10 (19,2%)

Після рандомізації пацієнтам з різних груп був запропонований певний варіант лікування: методика лікування групи №1 включала внутрішньосуглобове введення плазми, збагаченої тромбоцитами з високою їх концентрацією (не менше 1 млн /μL) і високою концентрацією лейкоцитів (Л-ЗТП) у поєднанні з низькомолекулярною гіалуроновою кислотою («Hialurom», S.C. (2 ml), Румунія), яка використовувалася в якості скаффолда (носія). Кількість ін’єкцій від 3 до 6 (залежно від ступеню ушкодження за Stoller), (15 мг/мл гіалуронової кислоти та 3 мл PRP) з інтервалом між ін'єкціями 2 тижні.

За 10 днів до початку процедур та протягом усього періоду лікування було рекомендовано утриматися від прийому протизапальних та

знеболювальних препаратів. У період лікування усім пацієнтам було рекомендовано дотримання обмежень фізичної активності:

• спуск/підйом сходами;

• підняття тяжкості;

• перерозгинання у колінних суглобах;

• глибокі присідання.

Група №2– отримувала терапію нестероїдними протизапальними препаратами (Ібупрофен, «Борщагівский ХФЗ», Україна, таб. 200 мг) перорально, по 1 табл. 2 р/день, 7 днів з перервою 1 тиждень) протягом 2-х міс. та курс фізичних вправ, що включали елементи тракції, вправ на укріплення m. quadriceps femoris, та вправ на розтягнення (тривалість заняття 25-30 хв., 3 рази на тиждень).

Пацієнтам групи №3 була проведена парціальна резекція меніска під артроскопічним контролем з подальшим наданням рекомендацій щодо рухового режиму в межах 1 міс. після оперативного втручання.

Критерії виключення пацієнтів:

- гостре ушкодження меніску (до 1 міс. після травми) ;
- пошкодження меніску по типу "ручки лійки";
- наявність блоку в суглобі;
- наявність остеоартрозу колінного суглоба 3 ст.

Методи дослідження. Оцінка больового синдрому проводилась за допомогою шкали Visual analogue scale (VAS, см), оцінка соціального статусу пацієнтів проводилась за допомогою шкали Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) та анкетуванням WOMAC (індекс остеоартрозу Західного Онтаріо і McMaster). Клінічна оцінка отриманих результатів здійснювалась через 3 міс., 6 міс., 12 міс., 24 міс. та 36 міс., відповідно.

Методи математичної обробки даних. Статистичний аналіз матеріалів дослідження виконували за допомогою програми MedStat методами описової статистики, розраховуючи в групах дослідження кількісні показники як середні вибіркові значення (M) та помилку середнього значення (m), якісні показники

наведені як частоти та їх відсоткові співвідношення. Статистична значущість відмінностей визначена параметричними та непараметричними методами: між кількісними показниками незалежних груп – за допомогою t-критерію тесту Стьюдента. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p<0,05$.

2.6.2 Матеріали для аналізу результатів лікування пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшових та колінних суглобів за допомогою регенеративних інтервенційних технологій

Загальну групу аналізу результатів лікування асептичного некрозу ділянки кульшового та колінного суглобів склали 182 пацієнта (262 суглоба), серед яких 102 чоловіки та 80 жінок. Середній вік хворих становив 42,5± 20,8 роки. У 121 пацієнта (187 суглобів) був асептичний некроз кульшових суглобів, у 61 пацієнта (75 суглобів) – асептичний некроз ділянки колінного суглоба. Середній вік пацієнтів з асептичним некрозом кульшових суглобів становив 40,4±18,7 років, середній вік пацієнтів з асептичним некрозом колінних суглобів - 51,2±9,3.

Серед чоловіків 80 пацієнтів було проліковано з приводу асептичного некрозу кульшових суглобів (40 пацієнтів з одностороннім ураженням та 46 – з двобічним) та 22 пацієнти з асептичним некрозом ділянки колінного суглоба (19 – з одностороннім ураженням та 3 – з двобічним).

Серед пацієнтів жіночої статі, 41 хвора була пролікована з приводу асептичного некрозу кульшових суглобів (21 – з одностороннім ураженням та 20 – з двобічним) та 39 з приводу асептичного некрозу колінного суглоба (28 – мали одностороннє ураження, 11 – двобічне).

Середній термін спостереження в усіх групах аналізу склав 12 ± 0,5 місяців.

В таблиці 2.9 представлено розподіл пацієнтів з асептичним некрозом

ділянки кульшового та колінного суглобів залежно від віку та статі, а також локалізації патологічного процесу.

Таблиця 2.9 – Розподіл пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового та колінного суглобів за віком, статтю та локалізацією патологічного процесу

Параметри	Характеристики	Показник загальний	Кульшовий суглоб	Колінний суглоб
Вік	років	42,5 ± 20,8	40,4±18,7	51,2±9,3
Стать [n (%)]	Чол.	102	80 (126 суглобів)	22 (25 суглобів)
	Жін.	80	41 (61 суглоб)	39 (50 суглобів)
Термін спостереження	Міс.	12± 0,5	12± 0,5	12± 0,5

У пацієнтів з асептичним некрозом кульшового суглоба результати лікування аналізували за шкалами HOOS, OHS та ВАШ. Відповідно у пацієнтів з асептичним некрозом колінного суглобів –за шкалами KOOS, OKS та ВАШ.

Аналіз проводили залежно від варіанту застосування регенеративних інтервенційних технологій. У групі 1 пацієнтам проводили тунелізацію проксимального (при асептичному некрозі ділянки кульшового суглоба) або дистального (при асептичному некрозі ділянки колінного суглоба) відділу стегнової кістки з подальшим введенням мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку (одноетапне лікування). У групі 2 першим етапом проводили передопераційну підготовку, шляхом внутрішньосуглобового введення аутологічного кроілізату тромбоцитів, другим етапом проводили тунелізацію з введенням мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку (двоетапне лікування). Розподіл пацієнтів у групах представлено в таб. 2.10.

Таблиця 2.10 – Розподіл пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового та колінного суглобів залежно від варіанту РІТ (група 1 – одноетапне лікування, група 2 – двоетапне лікування)

Варіант РІТ	Одноетапне лікування	Двоетапне лікування
Кульшовий суглоб (пацієнтів/суглобів)	60/85	61/102
Колінний суглоб (пацієнтів/суглобів)	29/29	32/46

Також аналізували результати лікування залежно від стадії асептичного некрозу за Ficat. Для пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового суглоба застосовували шкали Harris Hip Score, Oxford Hip Score та ВАШ, а для пацієнтів з асептичним некрозом ділянки колінного суглоба – KOOS, Oxford Knee Score та ВАШ. Розподіл пацієнтів представлено в таб. 2.11

Таблиця 2.11 – Розподіл пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового та колінного суглобів залежно від стадії за Ficat

Стадія АН за Ficat	Кульшовий суглоб	Колінний суглоб
1 (пацієнтів/суглобів)	43/68	26/37
2 (пацієнтів/суглобів)	51/76	21/24
3 (пацієнтів/суглобів)	27/43	14/14

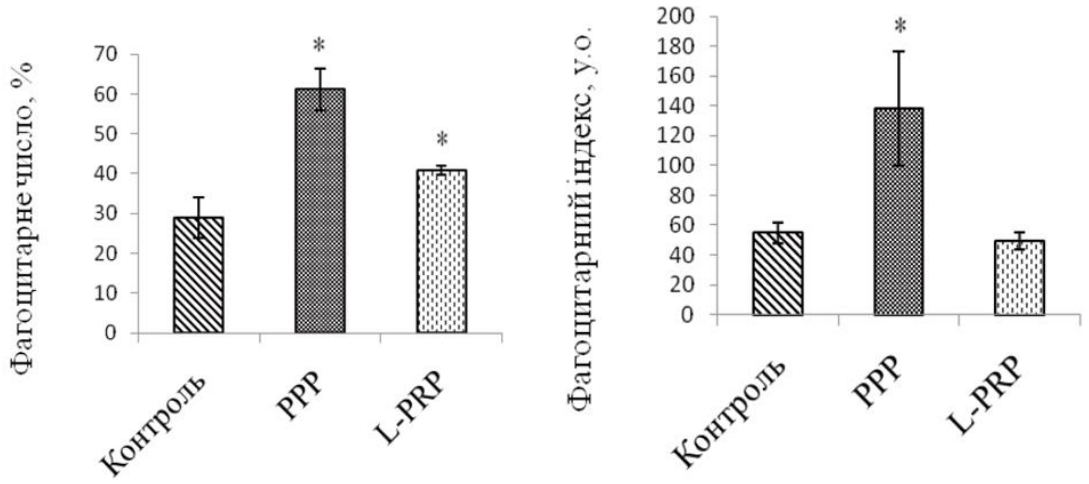
Робота метрологічно забезпечена. Дані про засоби вимірювальної техніки та медичного обладнання відображені у додатку 7 «Перелік засобів вимірювальної техніки, які були застосовані при виконанні дисертаційної роботи» та «Перелік засобів медичного обладнання, які були використані в дисертаційній роботі».

РОЗДІЛ 3
РЕГЕНЕРАТИВНІ ЕФЕКТИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОДУКТІВ *IN VITRO* НА ПРИКЛАДІ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ ТА ЇЇ ПОХІДНИХ

3.1 Результати дослідження ефектів Л-ЗТП та ПЗТ на метаболізм моноцитів аутологічної периферичної крові людини

Фагоцитарна активність мононуклеарних фагоцитів реалізується із залученням великої групи рецепторів, у тому числі й рецепторів очищення. Підвищення ендоцитарної активності пов’язане, як правило, з посиленням експресії цих рецепторів і є ознакою альтернативної (М2) поляризації клітин [72].

Як показали результати досліджень [187] (рис. 3.1), обробка моноцитів аутологічними препаратами L-PRP та PPP викликає збільшення кількості ендоцитуючих клітин (ФЧ) у 1,4 та 2,1 разів відповідно.



(а) **(б)**

Рисунок 3.1 – Фагоцитарне число (а) та інтенсивність фагоцитозу (б) моноцитів периферичної крові здорових донорів (n=3) після впливу ПЗТ (PPP) та Л-ЗТП (L-PRP) *in vitro*. Примітки: * − достовірність відмінності показників клітин, інкубованих з ПЗТ (PPP) та Л-ЗТП (L-PRP) порівняно з необробленими клітинами, $p \leq 0,05$

Інтенсивність фагоцитозу моноцитів, інкубованих з ПЗТ, була більшою в 2,5 рази порівняно з контролем. На противагу цьому, істотних змін даного показника для клітин, інкубованих з Л-ЗТП не спостерігали (рис. 3.1).

Продукція активних метаболітів кисню (РФК) та азоту (NO) асоціюється з цитотоксичною та антимікробною активністю мононуклеарних фагоцитів. Активація цих метаболічних процесів властива М1-макрофагам. Продукція РФК може спричинятися активацією внутрішньоклітинних естераз або НАДН-оксидаз. Застосований нами методичний підхід більшою мірою дозволяє оцінити продукцію РФК, опосередковану естеразами. За результатами наших досліджень рівень продукції внутрішньоклітинних РФК в клітинах, культивованих з Л-ЗТП (L-PRP) та ПЗТ (PPP), був нижчим у 4,6 та 3,7 разів відповідно порівняно з аналогічним показником необроблених клітин (рис. 3.2).

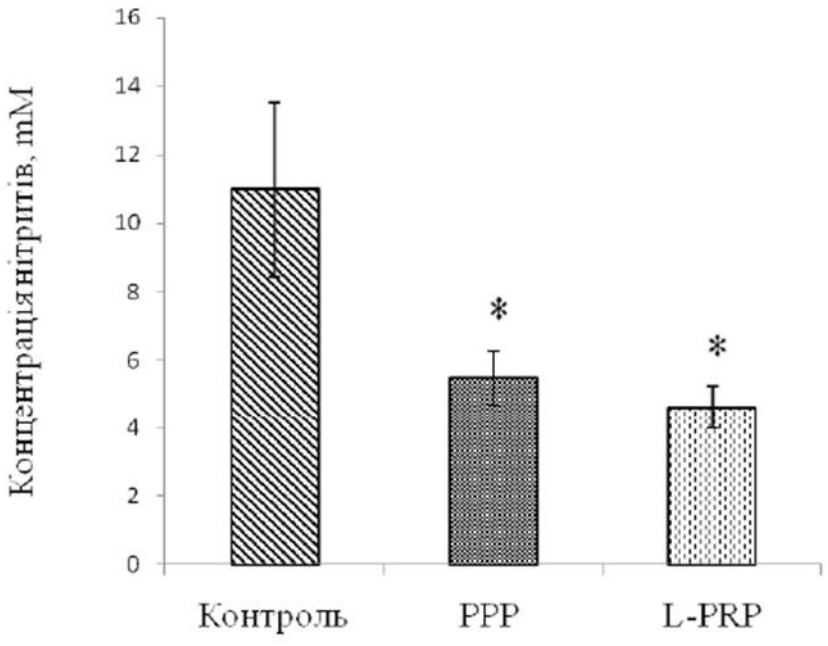


Рисунок 3.2 – Вплив ПЗТ (PPP) та Л-ЗТП (L-PRP) на продукцію внутрішньоклітинних реактивних форм кисню моноцитами периферичної крові здорових донорів (n=3) *in vitro*. Примітки: * − достовірність відмінності показників клітин, інкубованих з ПЗТ (PPP) та Л-ЗТП (L-PRP) порівняно з необробленими клітинами, $p \leq 0,05$

Зниження оксидативного метаболізму після обробки моноцитів аутологічними препаратами Л-ЗТП (L-PRP) і ПЗТ (PPP) свідчить на користь зсуву їх метаболізму у бік протизапального профілю.

Метаболізм аргініну – один з визнаних маркерів метаболічної спрямованості мононуклеарних фагоцитів. Для альтернативно поляризованих фагоцитів характерна підвищена активність аргінази, що дозволяє їм конвертувати аргінін на орнітин, попередник поліамінів і колагену, що сприяє формуванню позаклітинного матриксу. Крім того, утворені з орнітину поліаміни можуть впливати і на продукцію цитокінів, пригнічуючи клональну експансію лімфоцитів [188].

За результатами наших досліджень (рис. 3.3) аргіназна активність у клітинах, інкубованих з Л-ЗТП (L-PRP) та ПЗТ (PPP) була вищою, порівняно з необробленими клітинами.

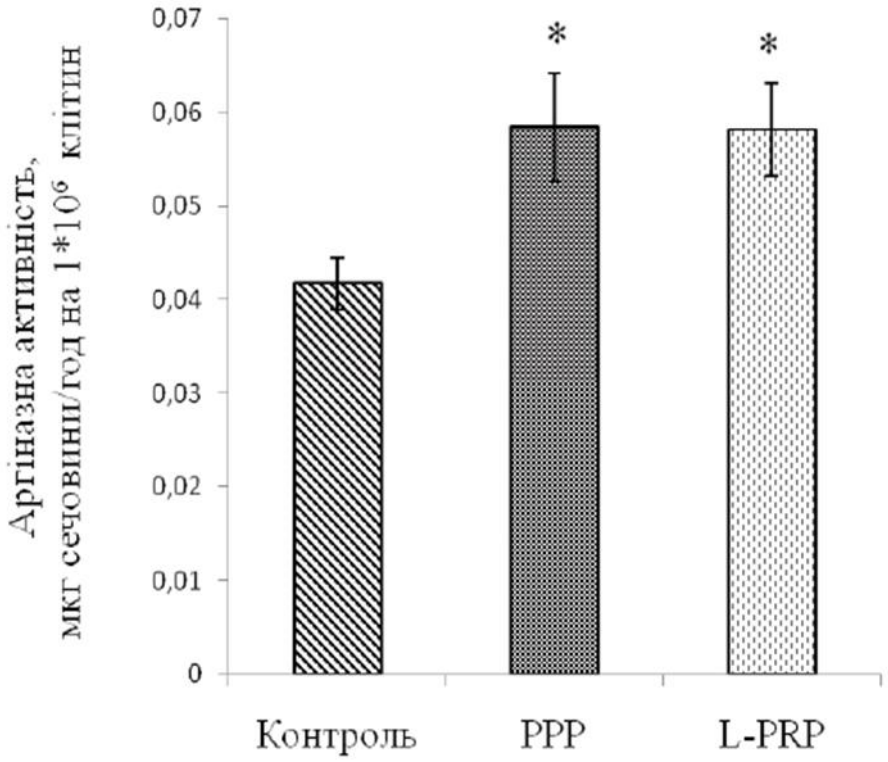


Рисунок 3.3 – Аргіназна активність моноцитів периферичної крові людини після впливу ПЗТ (PPP) та Л-ЗТП (L-PRP) *in vitro*. Примітки: * − достовірність відмінності показників клітин, інкубованих з PPP та LPRP порівняно з необробленими клітинами, $p \leq 0,05$

Метаболізм аргініну фагоцитами може також здійснюватися за рахунок активації індуцібельної NO-синтази (iNOS) з виробленням значної кількості NO. Переважання метаболізму аргініну за участю iNOS вважається ознакою прозапального зсуву метаболічного профілю цих клітин і властиве запальним і деструктивно-дегенеративним процесам у тканинах [189]. Визначення рівня продукції нітритів традиційно застосовується для оцінки синтезу NO фагоцитами. За результатами наших досліджень рівень нітритів в супернатантах моноцитів, оброблених аутологічними препаратами Л-ЗТП (L-PRP) та ПЗТ (PPP), був в 2 та 2,4 рази нижчим, ніж у супернатантах контрольних необроблених клітин (рис. 3.4).

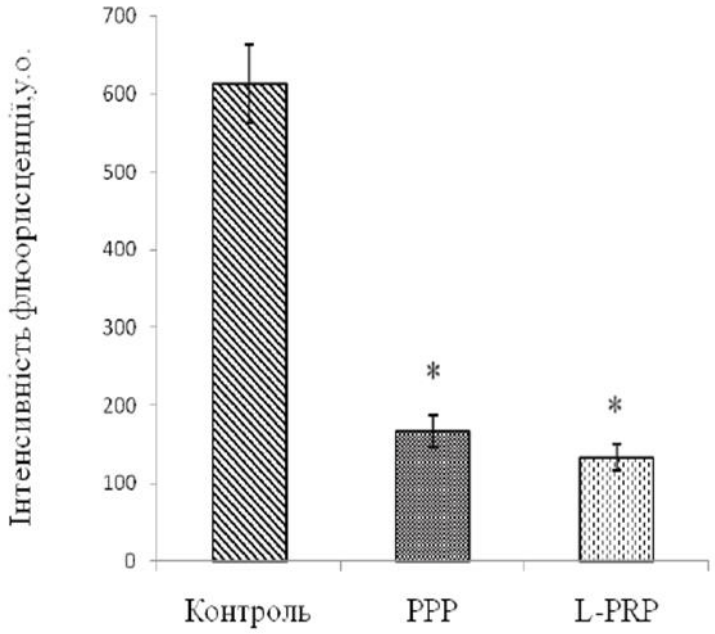


Рисунок 3.4 - Вплив ПЗТ (PPP) та Л-ЗТП (L-PRP) на продукцію NO моноцитами периферичної крові здорових донорів (n=3) *in vitro*. Примітки: * – достовірність відмінності показників клітин, інкубованих з ПЗТ (PPP) та Л-ЗТП (L-PRP) порівняно з необробленими клітинами, $p \leq 0,05$

Отримані дані свідчать на користь переважання в оброблених клітинах метаболізму аргініну, що також є ознакою їх протизапальної поляризації.

3.2 Результати дослідження рівня TGF-β1 в збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із захворюваннями та травмами опорно-рухового апарату

Вміст TGF-β1 визначено методом імуноферментного аналізу у 23 зразках ЗТП, отриманих від 14 пацієнтів з різною патологією опорно-рухового апарату [190] (табл. 3.1). Кров кожного з пацієнтів як донора використовували для приготування від 1 до 3 препаратів ЗПТ без врахування патології опорно-рухового апарату, віку та статі.

Таблиця 3.1 – Індивідуальні показники вмісту TGF-β1 у збагаченій та збідненій тромбоцитами плазмі у обстежених пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату

Пацієнт	Діагноз	Вік	Стать	Кількість зразків ЗТП	ПЗТ, нг/мл	ЗТП, нг/мл
1	Гонартроз	57	жіноча	1	7,34	184,44
2	Пошкодження меніска	39	чоловіча	1	2,44	184
3	Гонартроз	77	чоловіча	3	3,59	210,72
					6,13	206,27
					9,6	200,57
4	Пошкодження меніска	25	чоловіча	2	6,27	214,9
					6,79	211,7
5	Пошкодження зв'язок стопи	21	жіноча	2	3,94	224,63
					3,59	220,46
6	Гонартроз	74	жіноча	2	4,15	203,49
					2,1	128,12
7	Ентензопатія	40	чоловіча	1	10,2	156,63
8	Перелом шийки стегна	33	жіноча	1	6,86	213,23
9	Гонартроз	79	жіноча	1	2,82	175,68

						Продовження табл. 3.1
10	Гонартроз	70	чоловіча	1	8,49	219,35
11	Гонартроз	29	жіноча	2	15,76	221,15
					11,24	138,4
12	Артроз фалангового суглоба стопи	31	жіноча	1	10,44	210,59
13	Гонартроз	65	жіноча	1	3,21	205,58
14	Пошкодження меніска	48	чоловіча	1	9,53	204,47

Було встановлено, що середній рівень TGF-β1 в зразках ЗТП становив 194,57±25,76 нг/мл порівняно з контролем (ПЗТ), де його вміст становив 6,52±3,26 нг/мл (рис. 3.5). Відповідно, рівень TGF-β1 в ЗТП у 30 разів перевищував його вміст в контролі.

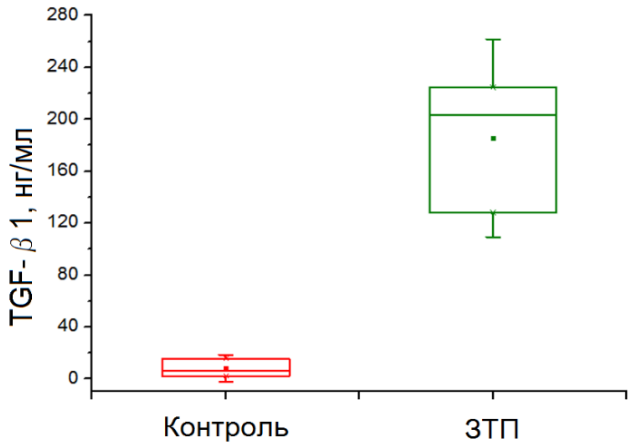


Рисунок 3.5 – Середній рівень TGF-β1 в досліджуваних зразках збагаченої (ЗТП) та збідненої тромбоцитами плазми (ПЗТ); $p < 0,05$.

TGF-β1 відіграє ключову роль на усіх етапах хондрогенезу [191], тому його розглядають як потенційний терапевтичний засіб для лікування остеартрозу [192-193]. TGF-β1 підсилює проліферацію клітин хряща та синтез ними позаклітинного матриксу [189]. Він, також, сприяє хондрогенному

диференціюванню мезенхімальних стовбурових клітин *in vitro* [194-195]. TGF-β1 сприяє проліферації фібробластів сухожилків та синтезу ними позаклітиного матриксу, зокрема колагену I типу [196], що може сприяти відновленню сухожилків після травм. Даний фактор росту також залучений до регулювання перебудови кісткової тканини [197], зокрема TGF-β1 сприяє зрощенню переломів кісток, залучаючи стовбурові клітини кісткового мозку до місця пошкодження [198-199]. Відповідно, TGF-β1 може використовуватись для лікування різних порушень опорно-рухового апарату, а ЗТП може бути його джерелом для використання з терапевтичною метою.

Не було встановлено статистично достовірної різниці між рівнем TGF-β1 в ЗТП у пацієнтів різних статей (p = 0,4), що збігається з літературними даними [200-202]. У жінок вміст цитокіна становив 207,13 ± 16,28 нг/мл, а у чоловіків 196,36 ± 22,42 нг/мл (рис. 3.6).

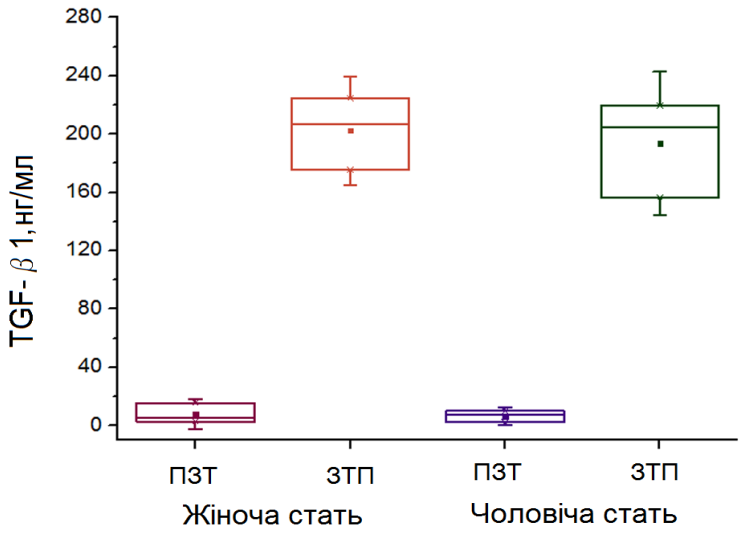


Рисунок 3.6 – Вміст TGF-β1 в збагаченій тромбоцитами плазмі (ЗТП) та плазмі, збідненій тромбоцитами (ПЗТ), залежно від статі пацієнтів; p = 0,4

Рівень TGF-β1 було досліджено у ЗТП пацієнтів залежно від їх віку без врахування статі, оскільки не була встановлена достовірна різниця між вмістом

TGF-β1 та статтю у досліджуваних зразках. Нами не було встановлено залежності за вмістом TGF-β1 у збагаченій тромбоцитами плазмі від віку пацієнтів ($p > 0{,}08$) (рис. 3.7).

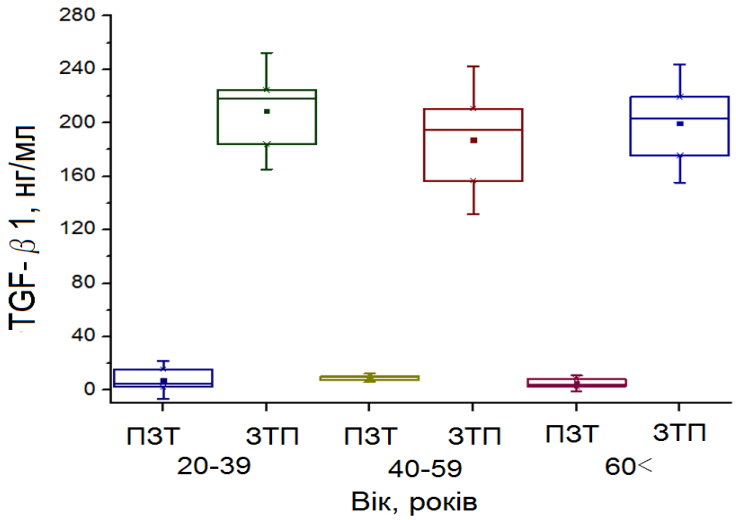


Рисунок 3.7 – Вміст TGF-β1 у збагаченій тромбоцитами плазмі (ЗТП) та плазмі, збідненій тромбоцитами (ПЗТ), у різних вікових груп пацієнтів; p > 0,08

Дані щодо залежності вмісту TGF-β1 в ЗТП від віку досить суперечливі. В одних дослідженнях показано, що вміст TGF-β1 в ЗТП не залежить від віку обстежених осіб [200-202]. В той же час, в дослідженні J. Evanson встановлено, що в осіб віком до 25 років рівень даного цитокіну в ЗТП вищий, ніж у осіб старших вікових груп [203].

3.3 Результати дослідження вмісту клітин крові в лейкоцитарній та збідненій лейкоцитами збагаченій тромбоцитами плазмі у пацієнтів із патологією опорно-рухового апарату

При дослідженні клітинного вмісту венозної крові 30 пацієнтів встановлено, що кількість лейкоцитів, еритроцитів та тромбоцитів становила $4{,}6 \pm 1 \times 10^6$ клітин/мл, $4014 \pm 397{,}7 \times 10^9$ кл/мл та $196{,}6 \pm 43 \times 10^6$ клітин/мл

відповідно.

Вміст тромбоцитів в ЗЛ-ЗТП та Л-ЗТП становив $2260 \pm 943{,}9 \times 10^6$ та $2803{,}2 \pm 933{,}8 \times 10^6$ клітин/мл, відповідно [204] (рис. 3.8). Отже, не було встановлено достовірної різниці між вмістом тромбоцитів в цих біотехнологічних продуктах, що збігається з даними деяких досліджень по збагаченій тромбоцитами плазмі [202, 205, 206-207]. Однак, в деяких дослідженнях показано, що вміст тромбоцитів в збіднених лейкоцитами концентратах тромбоцитів є значно нижчим, ніж в лейкоцитарних [208-209]. Оскільки в багатьох методиках приготування ЗЛ-ЗТП використовують одне центрифугування, це значно знижує рівень тромбоцитів порівняно з Л-ЗТП [208, 210-211].

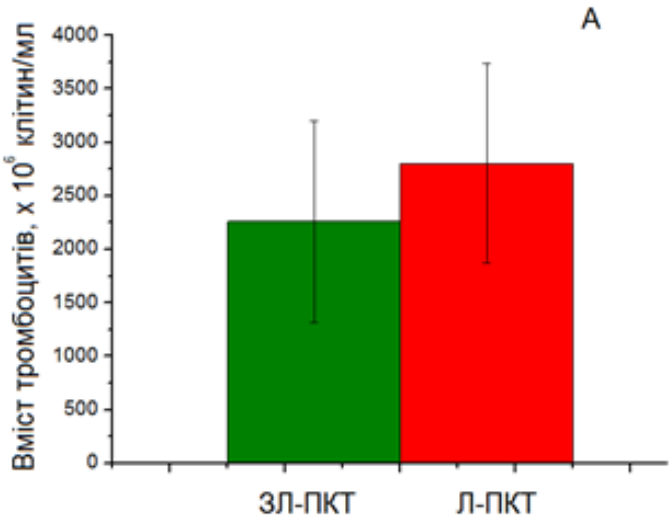


Рисунок 3.8 – Вміст тромбоцитів у зразках ЗЛ-ЗТП та Л-ЗТП у пацієнтів з порушеннями опорно-рухового апарату, M ± m (n = 21). *Примітка:* * - $p \leq 0{,}05$ в порівнянні з групою Л- ЗТП

Показники ефективності виділення тромбоцитів для обох методик отримання концентратів також співставні та становлять 76,5 ± 23,4 % та 83 ± 24,9 % для ЗЛ-ЗТП та Л-ЗТП. Отже, використані протоколи отримання ЗЛ-ЗТП та Л-ЗТП відносяться до методик із середньою ефективністю концентрації

тромбоцитів з цільної крові згідно з DEPA класифікацією таких препаратів, розробленою J. Magalon [84].

Показано, що вміст тромбоцитів у ЗЛ-ЗТП був підвищеним порівняно з плазмою, цільною кров'ю та плазмою, збідненою на тромбоцити (ПЗТ) у 8, 11 та 194 разів, відповідно (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Вміст різних типів клітин в крові, плазмі, збідненій лейкоцитами плазмі з концентратом тромбоцитів (ЗЛ-ЗТП) та плазмі, збідненій на тромбоцити (ПЗТ); n = 21

Тип клітин	Цільна кров	Плазма	ЗЛ-ЗТП	ПЗТ
Лейкоцити, 10^6 клітин/мл	4,5 ± 1,2	0,5 ± 0,2*	2,5 ± 1,1*	0,1 ± 0,0*
Еритроцити,10^6 клітин/мл	4040 ± 385,3	13 ± 5,71*	43 ± 16,7*	2,63 ± 4,5*
Тромбоцити, 10^6 клітин/мл	191 ± 42,1	279,05 ± 75,6*	2260 ± 943,9*	11,9 ± 8,5*

Примітка: * - $p \leq 0,05$ порівняно з цільною кров'ю.

Тоді як кількість тромбоцитів у Л-ЗТП перевищувала їх вміст в плазмі, цільній крові та ПЗТ у 8, 13 та 239 разів, відповідно (табл. 3.3). Літературних даних щодо впливу багатьох факторів, таких як вік та супутня патологія, на вміст тромбоцитів у препаратах концентратів клітин бракує. Однак, в дослідженні Weibrich G. [201] показано, що вік майже не впливає на вміст тромбоцитів в ЗТП. Крім того, дані дослідження Pauly S. [211], який використовував кров пацієнтів з тендинопатіями для виготовлення ЗТП, співставні з даними іншого дослідження [212], в якому використовувалась кров від здорових індивідів. В обох дослідженнях застосовували однакову

комерційну методику процесингу крові.

Таблиця 3.3 – Вміст різних типів клітин в крові, плазмі, лейкоцитарній збагаченій тромбоцитами плазмі (Л-ЗТП) та плазмі, збідненій на тромбоцити (ПЗТ); n = 20

Тип клітин	Цільна кров	Плазма	Л-ЗТП	ПЗТ
Лейкоцити, 10^6 клітин/мл	4,7 ± 0,7	1 ± 0,3*	5,9 ± 1,8*	0,095 ± 0,0
Еритроцити,10^6 клітин/мл	4012 ± 417,6	15,2 ± 6*	50 ± 2*	1,42 ± 3,6*
Тромбоцити, 10^6 клітин/мл	208,8 ± 36,7	336,8 ± 70,4*	2803 ± 933,8*	11,71 ± 7,6*

*Примітка: * - $p \leq 0,05$ порівняно з цільною кров'ю.*

Оскільки вміст тромбоцитів у цільній крові здорових дорослих людей коливається у відносно широкому діапазоні 150-450×10^6 клітин/мл, цей фактор необхідно враховувати при виготовленні всіх різновидів концентратів тромбоцитів [93]. Крім того, при деяких захворюваннях, зокрема імунній тромбоцитопенії та хронічному лейкоцитарному лейкозі, вміст тромбоцитів в крові знижується до 100×10^6 клітин/мл та нижче [213-214]. При вивченні залежності між вмістом тромбоцитів у цільній крові та в отриманих концентратах препарати були поділені на дві групи за кількістю тромбоцитів у крові, з якої вони були виготовлені. Встановлено, що в Л-ЗТП, виготовлених від осіб з кількістю тромбоцитів в цільній крові 150-200×10^6 клітин/мл та 200-250×10^6 клітин/мл, вміст тромбоцитів становив 2586 ± 715 та 3043 ± 999 клітин/мл, відповідно. В той час як в МЛ-ЗТП вміст тромбоцитів для цих же груп порівняння складав 2423 ± 613 та 2107 ± 705 клітин/мл, відповідно (рис. 3.9). Отже, не було встановлено достовірної різниці по вмісту тромбоцитів в ЗТП від пацієнтів з підвищеним (понад 200×10^6 клітин/мл) та більш низьким (до 200×10^6 клітин/мл) вмістом тромбоцитів у цільній крові. Не можна виключати,

що підвищений вміст тромбоцитів у крові понад 300×10^6 клітин/мл може більш істотно впливати на їх кінцевий вміст в ЗТП. Однак у нашій вибірці не було достатньо осіб з високим вмістом тромбоцитів в крові, щоб це встановити.

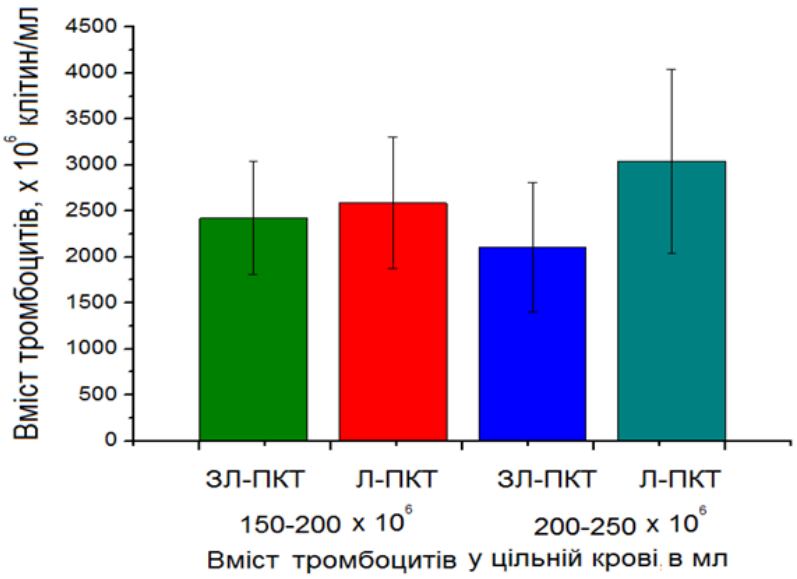


Рисунок 3.9 – Вміст тромбоцитів у Л-ЗТП та МЛ-ЗТП у пацієнтів залежно від початкової концентрації в цільній крові (M ± m; n = 7-10)

Деякими авторами встановлено, що вміст тромбоцитів корелює з рівнем факторів росту у концентратах тромбоцитів [73,101], зокрема трансформуючого фактору росту β1, тромбоцитарного фактору росту, фактору росту гепатоцитів та епідермального фактору росту [87, 102].

Рівень лейкоцитів в МЛ-ЗТП був знижений в 2 рази порівняно з Л-ЗТП (рис. 3.10). Він, також, був в 2 рази нижче ніж в крові, але у 5 раз вищим ніж в плазмі. Це збігається з даними деяких інших досліджень [213]. Вміст лейкоцитів в МЛ-ЗТП та Л-ЗТП становив $2,5 \pm 1,2\times10^6$ та $5,9 \pm 1,8\times10^6$ клітин/мл відповідно. Рівень лейкоцитів в Л-ЗТП був на 30% вищий ніж в крові, а також в 6 разів більшим ніж в плазмі. Однак, треба враховувати, що на вміст та кількість різних типів клітин в культурі тканини значною мірою впливають різні вихідні умови при виготовленні продукту, включаючи об'єм взятої крові

для її приготування, значення відцентрової сили при розділенні крові, кількість центрифугувань при отриманні концентратів тромбоцитів тощо.

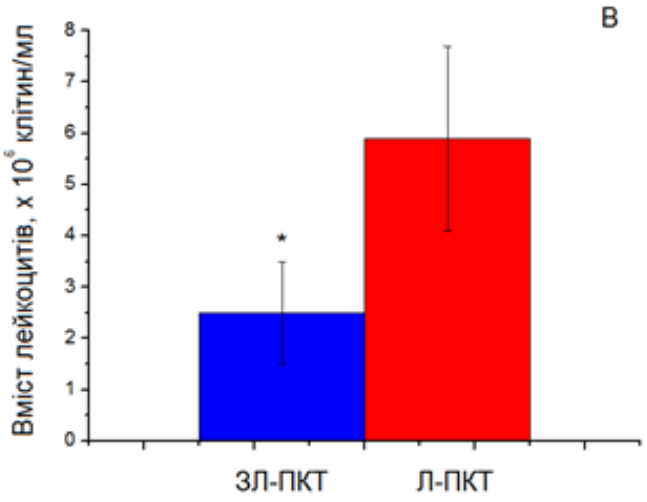


Рисунок 3.10 – Вміст лейкоцитів у зразках МЛ-ЗТП та Л-ЗТП у пацієнтів з порушеннями опорно-рухового апарату, M ± m (n = 21). *Примітка:* * - $p \leq 0,05$ в порівнянні з групою Л-ЗТП

Відомо, що в препаратах Л-ЗТП підвищений вміст прозапальних інтерлейкінів. Зокрема, на культурі фібробластів синовіальної оболонки суглоба було показано, що Л-ЗТП посилювала синтез клітинами прозапальних інтерлейкінів 1β та 8 [85, 207, 210, 214]. Крім того, було показано, що збагачена тромбоцитами плазма, збіднена на лейкоцити (МЛ-ЗТП), значно посилювала проліферацію остеоцитів, міоцитів та клітин зв'язок людини [215]. В той же час, лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма пригнічувала проліферацію тендоцитів та мезенхімальних стовбурових клітин, а також диференціацію останніх в клітини хряща та кістки [86, 214, 216-217]. Крім того, лейкоцитарна ЗТП може знижувати синтез молекул позаклітинного матриксу в тканинах. Зокрема, в хрящовій тканині під впливом інтерлейкіну 1β та фактору некрозу пухлин α знижується синтез основних компонентів позаклітинного матриксу – агреканів та колагена II типу [10, 94]. Це може пояснюватись наявністю

прозапальних цитокінів в Л-ЗТП, які сприяють катаболічним процесам в тканинах [207]. Незважаючи на ці негативні наслідки, використання Л-ЗТП може сприяти процесам загоєння, зокрема посилювати синтез факторів росту. Крім того, Л-ЗТП має виражену протимікробну дію, тому її не слід повністю виключати з клінічної практики [75]. Більше того, в клінічній практиці недостатньо даних щодо негативних впливів лейкоцитарної ЗТП порівняно із МЛ-ЗТП [10, 209]. Крім того, в деяких клінічних дослідженнях показано, що Л-ЗТП не підвищувала вміст прозапальних інтерлейкінів у синовіальній оболонці суглоба при лікуванні гонартрозу [218].

Кількість еритроцитів була знижена на 99 % в МЛ-ЗТП та Л-ЗТП порівняно з їх вмістом в цільній крові пацієнтів. Однак їх вміст в МЛ-ЗТП був вищий в 3 рази порівняно з плазмою та в 18 разів вищий, ніж в ПЗТ. Кількість еритроцитів у Л-ЗТП була у 4 та 40 рази більша ніж в плазмі та ПЗТ, відповідно. Відомо, що еритроцити можуть бути шкідливими для клітин та тканин [94-96]. Показано, що вони знижують життєздатність синовіоцитів [94], а також пригнічують синтез протеогліканів хрящової тканини [95-96]. Припускається, що механізм шкідливого впливу еритроцитів пов’язаний з посиленням оксидативних пошкоджень, зумовлених залізом гемоглобіну [95].

РОЗДІЛ 4
МЕТОДОЛОГІЯ ВИГОТОВЛЕННЯ СКАФФОЛДІВ ЗА ТЕХНОЛОГІЄЮ ГОСПІТАЛЬНОГО КІСТКОВОГО БАНКУ

4.1 Методологія обстеження донорів головок стегнових кісток та оцінка результатів її застосування.

Нами розроблено методику відбору донорів для виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку [219].

4.1.1 Результати анкетування пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини.

Серед усіх 640 опитаних потенційних донорів головок стегнових кісток відмовилися від донорства 18 пацієнтів. Тобто відсоток відмов склав 2,85%.

При анкетуванні 100 пацієнтів - потенційних донорів за допомогою опитувальника донора кісткової тканини (опитувальник клініки "Charite") були отримані наступні результати: на запитання № 1–3, 7, 9, 13, 16–21, 23–27 та 30 трансплант-координатори мали ствердні відповіді. Жодної ствердної відповіді не було отримано на наступні запитання: №4–6, 8, 10–12, 14–15, 22 та 28–29. Ми перефразували дані запитання наступним чином:

4. Чи існує у Вас підвищений ризик інфікування на гепатит В або С, ВІЛ інфекцію, спричинені вашим способом життя? (чи входите ви до групи ризику інфікування захворюваннями, що передаються через біологічні рідини**;** хворі на гемофілію також відносяться до групи високого ризику інфікування**)** ☐ ☐

5. Чи були у вас біологічні контакти протягом останніх 12 місяців з особами груп ризику інфікування захворюваннями, що передаються через біологічні рідини? ☐ ☐

6.Чи хворіли ви на інфекційні захворювання (наприклад, коронавірусна інфекція, малярія, токсоплазмоз, тропічні інфекційні захворювання), які потребували тривалого лікування, в тому числі реанімаційних заходів?

8. Чи хворіли ви на сальмонельоз, підтверджений лабораторно, частіше ніж один раз за життя?

10. Чи діагностували у вас або ваших родичів хворобу Крейтцфельда-Якоба? Чи страждаєте ви на неврологічні захворювання невідомого походження?

11. Ви відвідували Сполучене Королівство (Великобританії та Північної Ірландії) в період між 1.1.1980 і 31.12.1996 протягом 6 місяців або більше або вам виконували переливання крові / оперативні втручання в цих країнах?

12. Ви перенесли лікування або хворієте на онкологічні захворювання?

14.Чи проходили ви процедуру гемодіалізу або плазмафарезу за останні 6 місяців?

15.Чи страждаєте ви на важкі неврологічні захворювання (наприклад: менінгіт, енцефаліт, хвороба Альцгеймера, поліневрити)?

22.Чи отримували ви проникаючі травми забрудненими предметами протягом останніх 6 місяців?

28.У випадку, якщо ви були коли-небудь донором крові, чи відмовляли вам у донорстві?

29.Чи отримували ви травми після контакту з бездомними тваринами протягом останніх 3-х місяців?

Ці перефразовані запитання ми використали в опитуванні наступних 100 пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини, та отримали ствердні відповіді хоча б у одному випадку на усі запитання, крім запитання №11. Таким чином, це запитання виявилося неспецифічним для опитування наших пацієнтів у 100 відсотків усіх випадків при опитуванні 200 потенційних донорів.

Натомість, четверо опитаних потенційних донорів пов'язували своє захворювання з впливом іонізуючого опромінення (аварії на ЧАЕС), а 15 пацієнтів – з наслідками проживання на території, що постраждала внаслідок аварії на ЧАЕС.

Зважаючи на це, з метою забезпечення безпеки реципієнтів, ми включили до опитувальника запитання, що стосується можливих наслідків впливу іонізуючого випромінювання (постраждалі та учасники ліквідації аварії на ЧАЕС та особи, що проживають в радіаційно забруднених районах):

Чи брали ви участь в ліквідації аварії на ЧАЕС? Чи відноситесь ви до 1-4 категорії постраждалих від аварії на ЧАЕС? Чи проживаєте ви в зоні відчуження внаслідок аварії на ЧАЕС?	☐	☐

За отриманими результатами, при чутливості 100%, специфічність опитувальника, який ми використовували у 200 опитаних пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини склала 60%.

У зв'язку з цим ми модифікували цей опитувальник з урахуванням вказаних особливостей. Остаточний його варіант має наступний вигляд:

Опитувальник донора кісткової тканини

ПІБ_____

Дата та рік народження_____

ЛПУ, структурний підрозділ_____

№ історії хвороби_____

Діагноз_____

Шановний доноре!
Просимо надати інформацію про стан Вашого здоров'я, відповівши «так» або «ні» на наступні запитання:

	так	ні
1.Чи хворіли ви раніше або хворієте зараз на гепатит В або гепатит С? Чи отримували ви коли-небудь позитивні результати лабораторних досліджень на гепатит В або гепатит С?		
2.Чи хворіли ви на гепатит А або гепатит Е протягом останніх 2-х місяців? Чи хворієте ви в даний час на гепатит А або Е? Чи є у вас зараз або були раніше інші захворювання печінки неуточненого походження (хронічний гепатит, цироз печінки)		
3.Чи є ви носієм ВІЛ (незалежно від того, чи проявлялись симптоми захворювання, чи ні)?		
4.Чи існує у вас підвищений ризик інфікування збудниками гепатиту В або С, ВІЛ інфекції, спричинені вашим способом життя? (чи входите ви до групи ризику інфікування збудниками захворювань, що передаються через біологічні рідини**;** хворі на гемофілію також відносяться до групи високого ризику інфікування)		
5.Чи були у вас біологічні контакти протягом останніх 12 місяців з особами з груп ризику інфікування захворюваннями, що передаються через біологічні рідини?		
6. Чи хворіли ви на інфекційні захворювання (наприклад, коронавірусна інфекція, малярія, токсоплазмоз, тропічні інфекційні захворювання), які потребували тривалого лікування, в тому числі реанімаційних заходів?		
7.Чи хворіли ви або чи лікуєтесь від важкої інфекційної хвороби (наприклад, токсоплазмоз, тропічні інфекційні захворювання, хвороби спричинені *найпростішими*, остеомієліт)?		
8.Чи хворіли ви на сальмонельоз, підтверджений лабораторно, частіше ніж один раз за життя?		
9.Чи хворієте ви або чи лікувалися від туберкульозу? (Ви можете стати донором, якщо від моменту одужання пройшло не менше 2-х років)		
10. Чи діагностували у вас або ваших родичів хворобу Крейтцфельда-Якоба? Чи страждаєте ви на неврологічні захворювання невідомого походження?		
11. Ви перенесли лікування або хворієте на онкологічні захворювання?		
12.Чи страждаєте ви на цукровий діабет з дитинства або інсулінзалежний діабет протягом більш 10 років?		

13. Чи проходили ви процедуру гемодіалізу або плазмафарезу за останні 6 місяців?		
14. Чи страждаєте ви на важкі неврологічні захворювання (наприклад: менінгіт, енцефаліт, хвороба Альцгеймера, поліневрити)?		
15.Чи хворієте ви на системні аутоімунні захворювання, які можуть мати негативний вплив на донорську тканину (наприклад: ревматоїдний артрит, саркоїдоз, поліхондріт, анкілозуючий спондиліт, синдрому Рейтера, ревматизм, червоний вовчак, Базедову хворобу (дифузний токсичний зоб) або міастенію?		
16.Чи виконувались вам великі оперативні втручання протягом останніх 6 місяців або ендоскопії (біопсії) (шлунково-кишкового тракту, бронхів) з використанням гнучких інструментів? Чи проводились вам малі оперативні втручання або видалення зуба протягом останніх двох тижнів?		
17.Чи проводилось вам переливання донорської крові протягом останніх 6 місяців?		
18.Ви коли-небудь отримували лікування гормонами гіпофіза людського походження (наприклад гормони росту) або вам проводили оперативні втручання з використанням імплантів людського або тваринного походження (твердої мозкової оболонки, серцевих клапанів або рогівки)?		
19.Чи приймаєте ви імуносупресивні (імунодепрасанти) ліки?		
20.Чи робили вам татуювання або інші проколювання шкіри (пірсинг, акупунктура) протягом останніх 6 місяців, за межами медичної установи?		
21.Чи отримували ви травми забрудненими кров'ю голками протягом останніх 6 міс?		
22.Чи вакцинували вас проти сказу або чи отримували ви сироватку тваринного походження протягом останніх 12 місяців?		
23.Чи проводили вам щеплення так званими «живими вакцинами» протягом останніх 4 тижнів (кір, епідемічний паротит, краснуха, поліомієліт, тиф, холера, жовта лихоманка, туберкульоз)? Чи вакцинували вас проти гепатиту В протягом останніх 3 тижнів?		
24.Чи були у вас інфекційні захворювання протягом останніх 4 тижнів викликані бактеріями, вірусами або грибами?		
25.Чи хворіли ви на захворювання, що супроводжувалися лихоманкою або діареєю неуточненого походження протягом останніх 4 тижнів?		

26.Чи був у вас контакт з особами, хворими на інфекційні захворювання (наприклад краснуха, паротит, кір) протягом останніх 6 місяців?		
27. У випадку, якщо ви були коли-небудь донором крові, чи відмовляли вам у донорстві?		
28. Чи отримували ви травми після контакту з бездомними тваринами протягом останніх 3-х місяців?		
29.Чи мали ви інтенсивний контакт з токсичними речовинами протягом останніх 2-х років? Якщо так, з якими? Пояснення у разі ствердної відповіді:		
30. Чи брали ви участь в ліквідації аварії на ЧАЕС? Чи відноситесь ви до 1-4 категорії постраждалих від аварії на ЧАЕС? Чи проживаєте ви в зоні відчуження внаслідок аварії на ЧАЕС?		

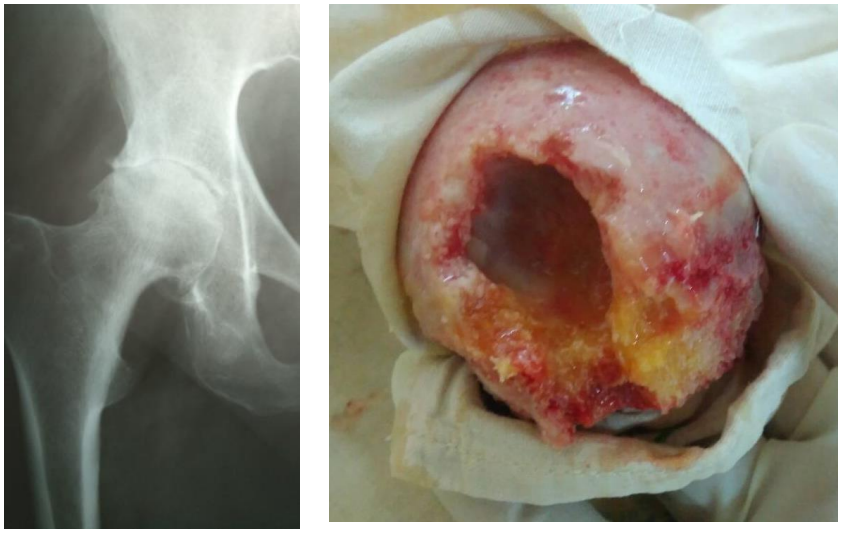
Даний опитувальник використали у 422 пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини. Як бачимо, згідно даного опитувальника, з потенційних донорів виключаються пацієнти з системними та ендокринними захворюваннями, пацієнти з груп ризику щодо інфікування на ВІЛ, гепатит В, С та сифіліс, а також особи, які тривалий час контактували з токсичними речовинами, а також тривалий час проживали в зоні відчуження чи були ліквідаторами аварії на ЧАЕС.

У випадку хоча б однієї відповіді «так», пацієнт був виключений з потенційних донорів. Ствердні відповіді ми отримали у 96 пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини.

4.1.2 Результати рентгенологічного та рентгеноморфометричного обстеження при відборі потенційних донорів кісткової тканини

З метою оцінки дефектів кісткової тканини усім пацієнтам в передопераційному періоді проводилась рентгенорграфія кульшових суглобів в прямій проекції. При цьому оцінювались такі показники, як форма головки стегнової кістки, її розміри, наявність кист, зон асептичного некрозу, дефектів.

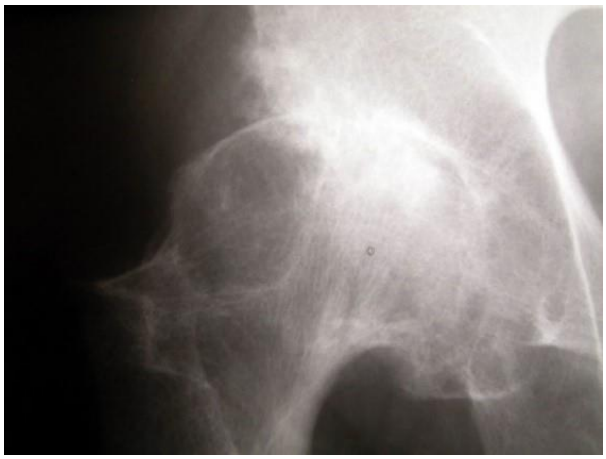
Наявність кист та зон асептичного некрозу, навіть невеликого розміру, розцінювалися як фактор ризику для подальшого відбору донорів, так як при наявності субхондральних кист та асептичному некрозі необхідно видалити патологічно змінену кісткову тканину до зони незміненої спонгіозної кісткової тканини. Однак, рентгенологічно розмір патологічно зміненої тканини не завжди відповідає дійсним розмірам, що може спричинити необхідність видалення більшого за розмірами обсягу кісткової тканини (рис. 4.1).



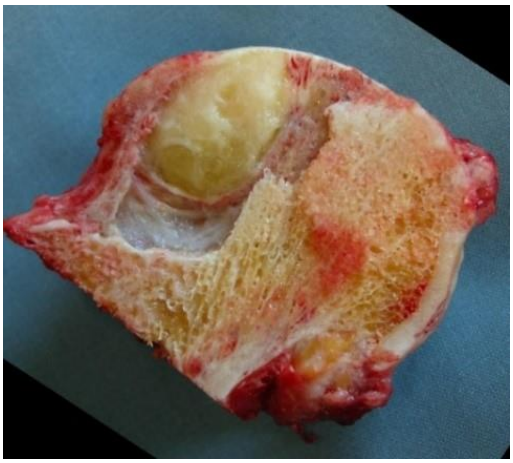
а) б)

Рисунок 4.1 – Співвідношення рентгенологічних розмірів кисти головки стегнової кістки (а) з фактичним розміром дефекту кісткової тканини після механічної обробки (б)

Таким чином, пацієнти з кистовидною перебудовою або з асептичним некрозом головки стегнової кістки, у яких є ураження понад 1/3 її об'єму за даними рентгенограм, були критерієм виключення для потенційного донорства (рис. 4.2) в зв'язку з тим, що при обробці такої головки втрачається понад 50% кісткового матеріалу для подальшої пластики.



а)



б)

Рисунок 4.2 – Рентгенограма головки стегнової кістки з наявністю кисти великих розмірів (а) та анатомічний взірець, що відповідає зазначеним рентгенограмам (б)

В таких випадках виникає ситуація, коли фактичний об'єм кісткового матеріалу, отриманого після обробки, буде недостатнім для подальшого використання як скаффолда.

Наведемо приклади рентгенологічного та рентгенморфометричного обстеження потенційних донорів кісткової тканини, коли за їх результатами пацієнти були виключені з подальшого обстеження (рис. 4.3–4.5):

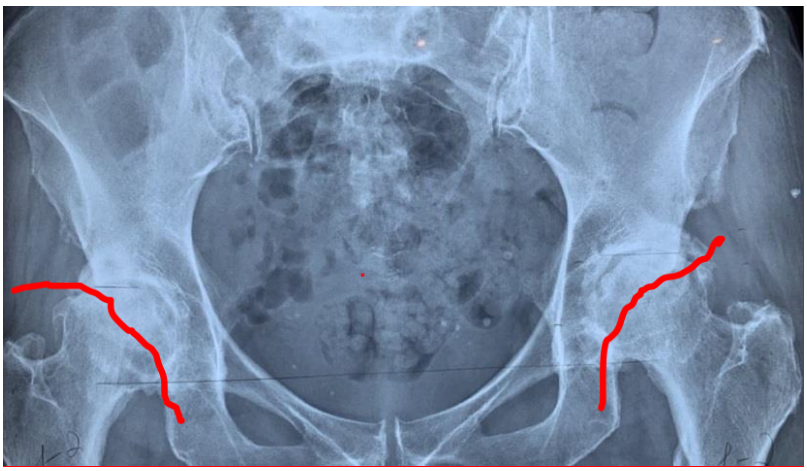


Рисунок 4.3 – Рентгенограма пацієнта з двобічним остеоартрозом кульшових суглобів з рентгенморфометричними критеріями виключення щодо потенційного донорства кісткової тканини

На представленій рентгенограмі (рис. 4.3) у пацієнта з двобічним остеоартрозом кульшових суглобів обидві головки стегнових кісток мають значні дефекти та непридатні для виготовлення скаффолдів.

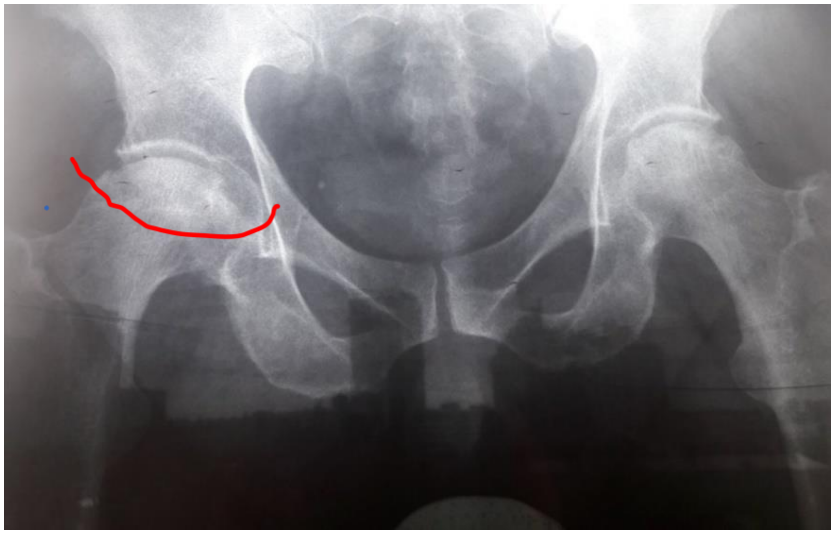


Рисунок 4.4 – Рентгенограма пацієнта з правобічним асептичним некрозом головки стегнової кістки з рентгенморфометричними критеріями виключення щодо потенційного донорства кісткової тканини

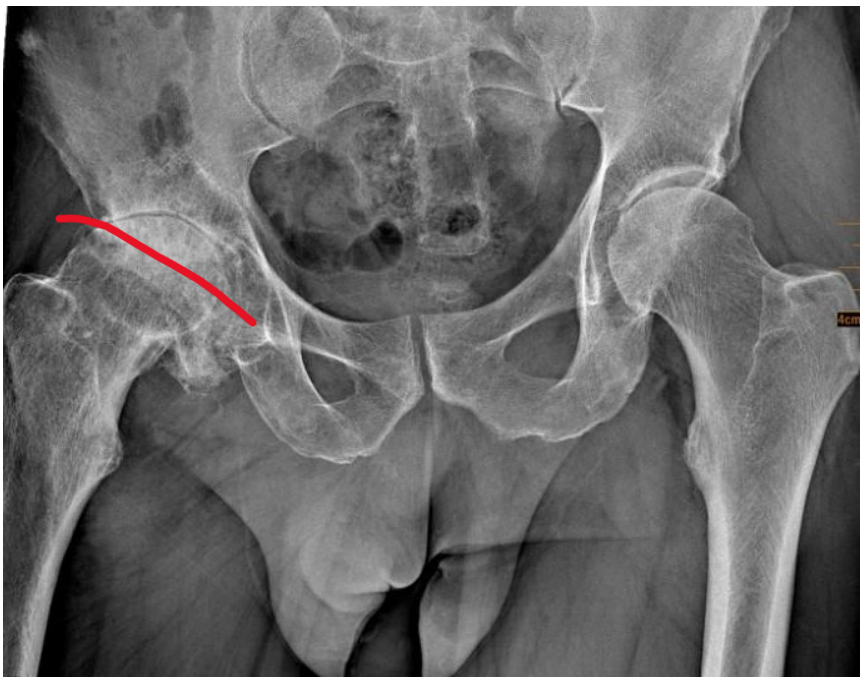


Рисунок 4.5 – Рентгенограма пацієнта з правобічним остеоартрозом кульшового суглоба з рентгенморфометричними критеріями виключення щодо потенційного донорства кісткової тканини

На представлених рентгенограмах (рис. 4.4- 4.5) у пацієнтів з двобічним остеоартрозом кульшових суглобів, головки правих стегнових кісток мають значні дефекти та непридатні для виготовлення скаффолдів. Головки лівих стегнових кісток можуть використовуватися для подальшого виготовлення скаффолдів.

За результатами рентгенморфометричного відбору з подальшого обстеження було виключено 327 пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини.

4.1.3 Результати відбору донорів кісткової тканини на підставі лабораторних досліджень

Однією з найбільших загроз при використанні алогенних кісткових скаффолдів залишається можливість передачі інфекційних захворювань.

Водночас не всі донори повністю обізнані про наявність у них негативних факторів, які можуть вплинути на якість отриманого матеріалу (перенесені та супутні захворювання) або можуть їх свідомо приховувати.

В ході проведеного обстеження 199 потенційним донорам кісткової тканини, які були відібрані за результатами перших трьох етапів, було проведено швидкий тест для виявлення гепатиту В, гепатиту С, ВІЛ та сифілісу «Профітест» та отримано наступні результати: у 187 пацієнтів тест виявився негативним, у 12 пацієнтів – позитивним.

Серед позитивних результатів розподіл був наступним: ВІЛ – 1 випадок, гепатит В (HBcAg, HBsAg) – 7 випадків, гепатит С – 4 випадки. Усі ці пацієнти заперечували наявність зазначених інфекцій в анамнезі. Для уточнення діагнозу вони були скеровані для проведення ПЛР-дослідження.

Таким чином, за результатами обстеження 640 потенційних донорів кісткової тканини отримали наступні результати (таб. 4.1):

Таблиця 4.1 – Результати обстеження пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини

Критерії відбору	Виключено з подальшого обстеження, пацієнтів	Відсоток пацієнтів, %
Інформована згода	18	2,8
Опитувальник	96	15
Рентгенморфометрія	327	51,1
Лабораторне обстеження	12	1,9
Всього	453	70,8

Отже, за результатами обстеження пацієнтів-потенційних донорів кісткової тканини придатними для донорства із 640 пацієнтів виявилися 187, тобто близько 30% усіх обстежених.

Запропоновану нами методику відбору донорів кісткової тканини можна представити наступною схемою (рис. 4.6)

Рисунок 4.6 – Схема відбору потенційних донорів кісткової тканини

Запропонований нами протокол відбору живих донорів кісткової тканини, до яких відносяться пацієнти, яким виконувалося ендопротезування кульшових суглобів, крім традиційних критеріїв враховує також рентгенморфометричні критерії, визначені за прямою рентгенограмою кульшових суглобів, а саме взаємовідношення здорової та патологічно зміненої кісткової тканини. Ми не вважаємо доцільним донорство при ураженні обсягу головки стегнової кістки 50% та більше. Так, за результатами оцінки ренгенморфометричного критерію, у нашому дослідженні з потенційних донорів було виключено понад 50% пацієнтів.

4.2 Методика обробки головки стегнової кістки для виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку

На підставі аналізу законодавства України [132], що стосується трансплантації тканин, світового досвіду діяльності кісткових банків та

власного досвіду виготовлення кісткових алотрансплантатів від живих донорів, нами запропоновано протокол виробництва кісткових трансплантатів алогенного походження від живих донорів [111].

Першим етапом виготовлення трансплантата є інтраопераційна обробка та тестування розмірів обробленої головки стегнової кістки, який складається з таких кроків:

- Обробка видаленої головки стегнової кістки від суглобового хряща та м'яких тканин (рис. 4.7).

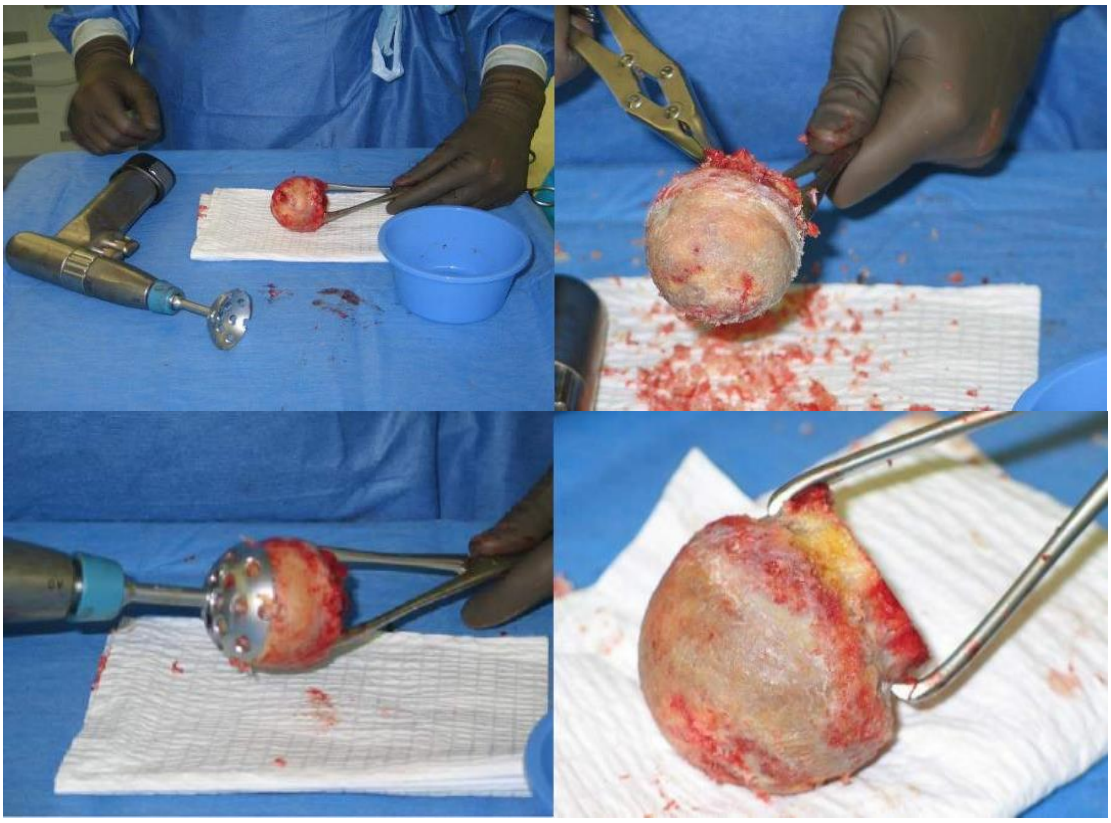


Рисунок 4.7 – Фото обробки головки стегнової кістки від суглобового хряща та м'яких тканин

- вимірювання максимального діаметру обробленої головки стегнової кістки – $ø_{max}$ не повинен перевищувати 56 мм, оскільки стерилізація головки стегнової кістки за технологією госпітального кісткового банку валідована лише для зазначених її розмірів [110-111]. При перевищенні

зазначеного розміру головку слід обробити, зменшивши їх до валідованих показників.

Наступний етап виготовлення трансплантата – термостерилізаційна обробка головки стегнової кістки за допомогою системи локального кісткового банку Lobator (рис. 4.8).

Рисунок 4.8 – Схема термостерилізаційної обробки головки стегнової кістки за допомогою системи локального кісткового банку (пояснення в тексті)

Механічно підготовлена (очищена) головка стегнової кістки поміщається в стерилізаційний контейнер, виготовлений зі спеціального термостійкого пластику та заливається сольовим розчином (розчин Рінгера або 0,9% розчин натрію хлориду). Нами запропоновано модифікацію процесу стерилізації, коли сольовий розчин містить в своєму складі повідон (препарат «Неогемодез»,

виробник ТОВ «Новофарм-Біосинтез», Україна), що має дезінтоксикаційні та сорбційні властивості [220-221]. Розроблена нами модифікація дозволяє покращити біологічні властивості трансплантата та робить можливим його зберігання при температурі -20°С протягом 2 років зі збереженням біомеханічних та остеокондуктивних властивостей.

Наступним етапом після стерилізації є тестування трансплантата на стерильність. Методика полягає у заборі з контейнера частини розчину, в якому відбувалася стерилізація головки стегнової кістки, з сорбованими під час обробки речовинами. Рідину вносять у флакон з поживним середовищем для аеробів та анаеробів, а також грибкової флори (рис. 4.9), який поміщається в аналізатор (виробник Biomeriaux, США). Експозиція відбувається протягом 14 діб, визначається ріст аеробної, анаеробної та грибкової флори. У випадку позитивного тесту трансплантат можна обробити повторно, використавши новий контейнер для стерилізації. Зазначена методика тестування на стерильність є обов'язковою вимогою, а також є валідованою для методики виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку [110-111].

Рисунок 4.9 – Приклад забору рідини зі стерилізаційного контейнера після обробки головки стегнової кістки для мікробіологічного дослідження на наявність аеробної та анаеробної мікрофлори (пояснення в тексті)

Валідація ефективності технології щодо інактивації збудників інфекційних захворювань [110]: віруси (ВІЛ, гепатити А, В, С, цитомегаловірус, вірус Епштейна-Барра, Т-лімфотропний вірус людини I/II, вірус Західного Нілу, парвовірус, вірус сказу тощо), бактерії (всі, що можуть передаватися через біологічні тканини), інші мікроорганізми та гриби (бліда трепонема, малярійний плазмодій, трипаносома, мікрофілярій, пріони тощо).

Наступним етапом виробництва є кріоконсервація трансплантату та подальше його зберігання в низькотемпературних камерах при температурі від -80^{0}С до -20^{0}С. Протягом двох тижнів з моменту посіву рідини, в якій оброблявся трансплантат, він перебуває на «карантині», тобто його не можна використовувати для реципієнта в цей період. Через 14 діб після посіву після отримання негативних результатів аналізу трансплантат є придатним для використання. Трансплантат може бути придатним до використання протягом 2 років у випадку кріоконсервації при температурі від -20^{0}С до -40^{0}С та протягом 5 років у випадку кріоконсервації при температурі -80^{0}С.

Для розморожування трансплантату перед його використанням у реципієнта використовували систему локального кісткового банку Lobator (рис. 4.10), в якій є спеціальний режим, або ж, за відсутності пристрою, розморожували трансплантат при кімнатній температурі протягом 2-3 годин.

Рисунок 4.10 – Фото підготовки кісткового алотрансплантату до застосування за допомогою системи локального кісткового банку Lobator (пояснення в тексті)

Отримали наступні результати мікробіологічних досліджень (таб. 4.2).

Таблиця 4.2 – Результати мікробіологічного дослідження скаффолдів, виготовлених за технологією госпітального кісткового банку

Всього досліджено скаффолдів	Позитивний тест	Негативний тест
232	3	229

В одних з перших зразків скаффолдів отримали 3 позитивні проби на наявність мікроорганізмів. Виділили наступні мікроорганізми:

- *Peptostreptococcus anaerobius*-1,
- *Enterococcus faecalis*-1,
- *Pasteurella pneumotropica*-1.

Як бачимо, виділені мікроорганізми є умовно патогенними. Оскільки технологія виготовлення кісткових скаффолдів є валідованою щодо інактивації даних мікроорганізмів, ймовірно тести виявилися позитивними через недотримання лаборантом правил асептики та антисептики під час виконання мікробіологічного аналізу. Виконали повторну обробку скаффолдів та отримали негативні тести.

У жодного пацієнта, якому трансплантували скаффолд, не відмічали ускладнень чи побічних реакцій, що підтверджує валідність методики.

4.3 Результати *in vitro* дослідження регенеративних властивостей скаффолдів, виготовлених за технологією госпітального кісткового банку та інших варіантів скаффолдів

На першому етапі дослідження нами було проведено порівняльну оцінку впливу скаффолдів різного походження та виробництва на життєздатність нормальних фібробластів людини лінії M19 [222] (табл. 4.3). При цьому було

досліджено 2 часові точки – 4 та 7 діб для отримання даних щодо ростових характеристик фібробластів за умов експозиції їх зі скаффолдами на різних етапах росту культури (експоненційна та фаза плато). Оцінку результатів проводили шляхом фарбування клітин кристалічним фіолетовим, який зафарбовує білки і ДНК в клітині.

Таблиця 4.3 – Показник життєздатності фібробластів людини за умов їх співкультивування з різними скаффолдами *in vitro*

Варіант скаффолду	Час культивування зскаффолдами	
	4 доби	7 діб
	% живих клітин, (M ± SD)	
Гідроксиапатит (ГА)	28,0 ± 6,0*◊	19,0 ± 4,0*◊
Алогенний кістковий матрикс оброблений гамма-іррадіацією (АКМ ГІ)	77,0 ± 2,0*#	64,0 ± 6,0*#
Алогенний кістковий матрикс оброблений термічно (АКМ ТС)	58,0 ± 9,0*#	51,0 ± 3,0*#
Бета-трикальційфосфат (ТКФ)	29,0 ± 4,0*◊	34,0 ± 2,0*# ◊
Контроль клітин (клітини без скаффолду)	100,0 ± 3,2	100,0 ± 2,8

*Примітка: * – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками контроля клітин, $p < 0,05$; # – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи ГА, $p < 0,05$; ◊ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи АКМ ГІ.*

В результаті було встановлено, що найвищий показник життєздатності фібробластів М19 (відносно 100% контролю клітин, що культивували без скаффолду) реєстрували після їх співкультивування зі скаффолдом АКМ ГІ (див. табл. 4.3), тоді як керамічні скаффолди (ГА і ТКФ) показали найгірші

результати: показники життєздатності фібробластів були статистично достовірно нижче відносно контролю клітин та інших варіантів скаффолдів на 65–80% і 30–50%, відповідно, як на 4-ту, так і на 7-му добу спостереження. При цьому скаффолд АКМ ТС показав середній результат щодо відносного вмісту живих клітин при їх експозиції з біоматеріалом, а саме на 4-ту добу показник життєздатності становив 58%, а на 7-му добу – 51% відносно 100% контролю.

Виявлений антипроліферативний вплив біокерамічних скаффолдів (ГА, ТКФ) може бути обумовлений високою локальною концентрацією іонів кальцію, що виділяються із досліджених матриксів [223]. Подібний вплив біокерамічних скаффолдів спостерігали на нормальні гепатоцити дорослих щурів за умов їх співкультивування з нефізіологічними концентраціями матриксу [224].

Найменш виражений антипроліферативний ефект АКМ ГІ, ймовірно, можна пояснити тим, що доза гамма-іррадіації, яка застосовувалася при обробці алогенних скаффолдів не змінює остеокондуктивні властивості кісткової тканини [225]. Більш виражений, порівняно з АКМ ГІ, антипроліферативний ефект АКМ ТС ймовірно пов'язаний з тим, що після термообробки в кістковому матриксі наявні залишки ліпідів, що може погіршувати остеокондуктивні властивості цього варіанту скаффолду. Так, наприклад, за даними літератури деліпідизація є обов’язковою для протоколу виготовлення скаффолдів ксеногенного походження [226].

На основі попередніх результатів було відібрано два найбільш перспективні скаффолди (АКМ ГІ та АКМ ТС), при співкультивуванні з якими відмічали найвищі показники життєздатності нормальних фібробластів людини. Ці матрикси використовували для подальших досліджень їх впливу на проліферацію фібробластів *in vitro* та оцінку комплексної дії додаткових чинників (додавання ЗТП, модифікація скаффолду) для покращення біосумісності та максимального зниження можливого антипроліферативного впливу, оскільки життєздатність клітин після дії біоматеріалу свідчить і про

його характеристики безпеки.

На другому етапі дослідження нами було застосовано два підходи для покращення біосумісності та остеоіндуктивних характеристик скаффолдів при культивуванні з фібробластами людини, а саме: модифіковано АКМ ТС шляхом видалення ліпідів та додатково до ростового середовища додано ЗТП, як джерело цитокінів та ростових факторів. При цьому в експериментах було використано 2 варіанти концентрації ЗТП – 10 і 20% від загального об'єму поживного середовища (табл. 4.4), які були обрані на основі результатів досліджень впливу ЗТП на проліферацію клітин людини в системі *in vitro*, отриманих різними авторами [227].

Таблиця 4.4 – Показник життєздатності фібробластів людини за умов їх співкультивування з різними варіантами скаффолдів та ЗТП *in vitro* (% живих клітин, n=3, M ± SD)

№	Варіант скаффолду	Умови культивування (ростове середовище)					
		Контроль клітин	+ ЗТП 10%	+ ЗТП 20%	Контроль клітин	+ЗТП 10%	+ ЗТП 20%
		Доба культивування					
		4			7		
1	АКМ ГІ	73,0±4,0*	99,0±11,0▲	126,0±3,0*	63,0±6,0#	65,0±5,0#▼	78,0±4,0#
2	АКМ ТС+ 70% спирт (модифікована)	120,0±2,0*▬	101,0±12,0▬	140,0±6,0*◊▬	70,0±3,0#▬	88,0±7,0▬	91,0±11,0▬
3	АКМ ТС (без модифікації)	47,0±11,0*	39,0±1,0*▲	50,0±4,0*◊	39,0±9,0#	43,0±2,0#▼	44,0±8,0#•
4	Контрольні групи	100,0±3,8 (М19 без скаффолду і ЗТП)	125,0±5,7* (М19 +ЗТП 10%)	114,0±12,0 (М19 + ЗТП 20%)	100,0±4,1 (М19 без скаффолду і ЗТП)	101,0±2,0 (М19 + ЗТП 10%)	81,0±13,0 (М19 +ЗТП 20%)

*Примітки: * – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками контроля клітин (М19 без скаффолду і ЗТП) на 4-ту добу, $p < 0,05$;# – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками контроля клітин*

(М19 без скаффолду і ЗТП) на 7-му добу, p < 0,05; ▲ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + ЗТП 10% на 4-ту добу, p < 0,05; ▼ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + ЗТП 10 % на 7-му добу, p < 0,05; ◊ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + ЗТП 20% на 4-ту добу, p < 0,05; ● – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + ЗТП 20% на 7-му добу, p < 0,05; ¯ – статистично достовірні відмінності двох показників один відносно одного при порівнянні показників груп АКМ ТС (без модифікації) та АКМ ТС+70% спирт (модифікована), p < 0,05.

Було встановлено, що модифікація скаффолду АКМ ТС методом деліпідізації суттєво підвищила його біосумісність по відношенню до фібробластів людини лінії М19 (зокрема за показниками життєздатності та проліферації клітин після співкультивування зі скаффолдом), порівняно з іншими варіантами матриксів (табл. 4.4). За літературними даними відомо, що у такому випадку залишки ліпідів у кістковій тканині можуть бути бар'єром для заселення його клітинами і, як наслідок, негативно впливати на їх біосумісність та остеоінтеграцію. Окрім того, макрофаги реципієнта можуть сприймати такі ліпіди як чужорідні антигени та індукувати реакції запалення,що призводить до посилення резорбції кістки та виникнення фіброзу [228].

Було встановлено, що після модифікації АКМ ТС спричиняє мітогенний вплив на клітини М19 – відмічали статистично достовірне підвищення показника життєздатності клітин при додаванні 20% ЗТП на 4-ту добу культивування, порівняно з клітинами М19 без скаффолду і ЗТП, та на 73% відносно «М19 + АКМ ТС» (див. табл. 4.4). Слід зазначити, що на 7-му добу інкубації мітогенний ефект «АКМ ТС + 70% спирт» порівняно з клітинами М19 без скаффолду і ЗТП вже не спостерігали, однак показник життєздатності цієї групи був статистично достовірно вищим на 30% порівняно з групою «М19 + АКМ ТС».

Результати, представлені в таблиці 4.4 також свідчать про те, що 10%-вий

вміст ЗТП у культуральному середовищі статистично достовірно підвищує показники життєздатності клітин М19 на 4-ту добу спостереження на 25%, порівняно з клітинами М19 без скаффолду і ЗТП. Підвищення вмісту ЗТП у культуральному середовищі до 20% також призводило до підвищення показників життєздатності фібробластів в середньому на 14%, порівняно з клітинами М19 без скаффолду і ЗТП. Однак, такі зміни були статистично недостовірними відносно клітин М19 без скаффолду і ЗТП.

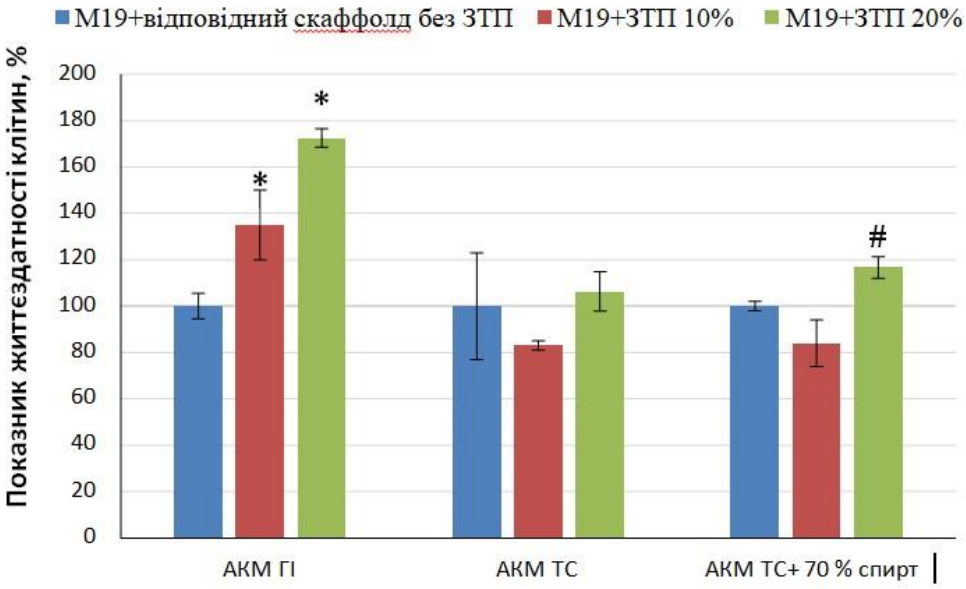
Отже, підвищення показників життєздатності фібробластів людини лінії М19 спричинене додаванням 10% або 20% від об'єму ростового середовища ЗТП спостерігали лише на 4-ту добу їх інкубації, що може свідчити про більш значний її вплив в експоненціальній фазі росту клітинної популяції. Оскільки проведені дослідження не передбачали зміну середовища та пересів клітин після дії чинників, які оцінювалися, то на 7-му добу фібробласти під дією ЗТП утворювали моношар клітин швидше за контроль та, відповідно, внаслідок контактного інгібування ріст клітин зупинявся в зразках з біоматеріалом.

Стимулюючі ефекти ЗТП можна пояснити її складом. Відомо, що ЗТП може містити багато ростових факторів і цитокінів, зокрема, PDGF, TGF-β, VEGF, EGF, FGF та IGF-1 [229-231]. За результатами наших досліджень, представлених нами у розділі 3, підрозділі 3.1 [190] було показано наявність значної концентрації TGF-β1 у складі ЗТП. TGF-β1 – представник групи цитокінів, фактор росту, який відіграє важливу роль у регуляції усіх основних видів клітинної активності: забезпечує метаболічну активність клітин, зокрема проліферацію, диференціацію та біосинтез макромолекул міжклітинної речовини. Велика кількість цього протеїну міститься у тромбоцитах. Присутність рецепторів до TGF-β1 на поверхні остеобластів і хондроцитів дає можливість припустити участь цього фактору на усіх етапах регенерації тканин опорно-рухового апарату [232]. Також, TGF-β стимулює проліферацію фібробластів і зміну їх фенотипу, залучаючи ці клітини до процесів регенерації тканин опорно-рухового апарату [233].

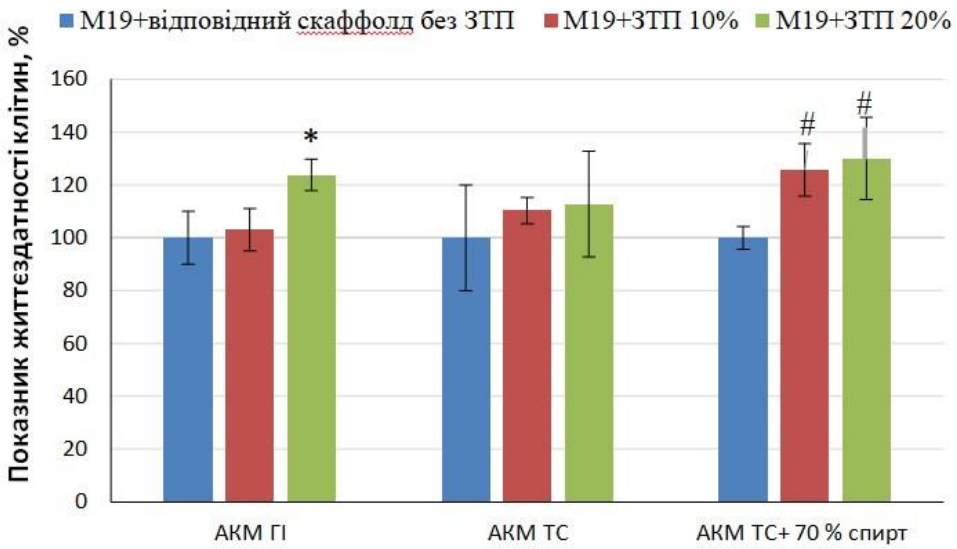
Слід додати, що АКМ ТС без деліпідізації, як на 4-ту, так і на 7-му добу інкубації, характеризувався суттєвим антипроліферативним впливом на клітини М19 (див. табл. 4.4): відмічали статистично достовірне пригнічення показників життєздатності фібробластів на 40–50%, порівняно з клітинами М19 без скаффолду і ЗТП. Подібні результати отримували і на І-му етапі наших досліджень (див. табл. 4.3). Наявність ЗТП в культуральному середовищі суттєво не впливала на біосумісність такого матриксу з фібробластами. Отримані результати дозволяють припустити, що в такому випадку додавання ростових факторів, джерелом яких є ЗТП, недостатньо для покращення біосумісності такого скаффолду і лише його модифікація, зокрема шляхом деліпідізації, може вирішити цю проблему.

Для всебічного аналізу впливу ЗТП на показники життєздатності фібробластів, за умов їх співкультивування зі скаффолдами, ми провели порівняльний аналіз отриманих результатів в межах кожної експериментальної групи окремо, використовуючи як групу порівняння клітини М19 та відповідний скаффолд без ЗТП (рис. 4.11). Показники життєздатності в кожній групі порівняння (М19 + відповідний скаффолд без ЗТП) представляли як 100%.

Встановлено, що додавання 10% або 20% ЗТП до фібробластів, які культивували з АКМ ГІ протягом 4 діб, призводило до статистично достовірного підвищення показників життєздатності клітин на 35% або 72,6%, відповідно, порівняно з показниками групи «М19+АКМ ГІ» без ЗТП (рис. 4.11 А). Статистично достовірне збільшення показника життєздатності фібробластів спостерігали також на 4-ту добу експерименту за умов їх співкультивування з АКМ ТС + 70% спирт + 20% ЗТП на 17% відносно показника групи АКМ ТС + 70% спирт без ЗТП (рис. 4.11 А).



А.



Б.

Рисунок 4.11 – Вплив ЗТП на показники життєздатності нормальних фібробластів людини лінії М19 за умов їх співкультивування з різними варіантами скаффолдів: А – 4-та доба культивування клітин, Б – 7-ма доба культивування клітин. *Примітка:* * – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + АКМ ГІ без ЗТП, $p < 0,05$; # – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + АКМ ТС + 70%спирт без ЗТП, $p < 0,05$

На 7-му добу спостереження відмічали статистично достовірне підвищення показника життєздатності фібробластів за умов їх співкультивування з АКМ ГІ разом з 20% ЗТП на 23,8%, порівняно з групою М19 + АКМ ГІ (рис. 4.11 Б). Окрім того, співкультивування клітин М19 з АКМ ТС + 70% спирт з 10% або 20% ЗТП також призводило до статистично достовірного збільшення показників життєздатності фібробластів на 25,7% та 30%, відповідно, відносно клітин М19 + АКМ ТС + 70% спирт (див. рис. 4.11 Б). Слід зазначити, що ЗТП суттєво не впливала на біосумісність скаффолду АКМ ТС (без деліпідізації) з нормальними фібробластами людини лінії М19 (див. рис. 4.11).

Отримані результати свідчать, що 10% або 20% вміст ЗТП в поживному середовищі фібробластів М19, за умов їх співкультивування зі скаффолдами, створеними на основі алогенного кісткового матриксу, суттєво підвищує показники життєздатності клітин не лише на 4-ту, а і на 7-му добу інкубації. Тобто, в таких умовах ЗТП сприяє виживаності нормальних фібробластів досить тривалий час. Отримані дані дозволяють припустити, що клінічне застосування таких матриксів і ЗТП в комплексі потенційно підвищить регенеративні властивості методики і отриманий ефект буде спостерігатись довше.

З метою пошуку можливих механізмів описаних вище змін показників життєздатності фібробластів за умов їх співкультивування з різними видами скаффолдів в присутності ЗТП нами було досліджено експресію маркера проліферації Кі-67 в клітинах М19. Кі-67 – це ядерний білок, який пов'язаний з клітинною проліферацією. Маркер експресується у фазах S, G1, G2 та M клітинного циклу в ядрі клітини і свідчить про їх проліферативну активність.

За результатами імуноцитохімічного аналізу фібробластів людини лінії М19 після їх експозиції зі скаффолдами і ЗТП було встановлено, що на 4-ту добу експерименту, в порівнянні з клітинами М19 без скаффолду і ЗТП, було виявлено наступні статистично достовірні зміни експресії Кі-67: зменшення кількості Кі-67^{+} клітин на 50,4% в групі «М19+АКМ ТС» і на 66,4% в групі М-

19+АКМ ТС + 10% ЗТП; підвищення експресії маркера на 51,3% в групі, де фібробласти культивували з 20% ЗТП; підвищення експресії маркера на 47% в групі М19+АКМ ГІ + 20% ЗТП; збільшення кількості Кі-67^{+} клітин і підвищення експресії білка на 51,3% в групі М19 + АКМ ТС + 70% спирт + 10% ЗТП і на 76,5% в групі М19 + АКМ ТС+70% спирт + 20% ЗТП (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 – Рівень експресії маркера проліферації Кі-67 в фібробластах людини за умов співкультивування із різними варіантами скаффолдів та ЗТП *in vitro*

№	Варіант скаффолду	Умови культивування					
		контроль клітин	+ЗТП 10%	+ЗТП 20%	контроль клітин	+ЗТП 10%	+ЗТП 20%
		Доба культивування					
		4			7		
		бали, за системою H-Score					
1	АКМ ГІ	120,0 ± 10,0	140,0 ± 11,0	175,0 ± 15,0*†	80,0 ± 10,0	90,0 ± 5,0	90,0 ± 12,0
2	АКМ ТС+70% спирт (модифікована)	139,0 ± 10,0●	180,0 ± 16,0*●‡	210,0 ± 6,0*◊●‡	100,0 ± 10,0●	127,0 ± 7,0#▼●◘	130,0 ± 10,0#●◘
3	АКМ ТС (без модифікації)	60,0 ± 10,0*	40,0 ± 5,0*▲	101,0 ± 4,0◊♦	70,0 ± 11,0#	89,0 ± 7,0	74,0 ± 6,0#
4	Контрольні групи	119,0 ± 11,0 (М19 без скаффолду і ЗТП)	144,0 ± 17,0 (М19 + ЗТП 10 %)	180,0 ± 11,0* (М19 + ЗТП 20 %)	94,0 ± 4,0 (М19 без скаффолду і ЗТП)	98,0 ± 5,0 (М19 + ЗТП 10 %)	110,0 ± 17,0 (М19 + ЗТП 20 %)

*Примітки: * – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками контроля клітин (М19 без скаффолду і ЗТП) на 4 добу, $p < 0,05$; # – статистично достовірні відмінності порівняно з показниками контролюклітин (М19 без скаффолду і ЗТП) на 7-му добу, $p < 0,05$; ▲ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + ЗТП 10% на 4-ту добу, $p < 0,05$; ▼ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + ЗТП 10% на 7-му добу, $p < 0,05$; ◊ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з показниками групи М19 + ЗТП20% на 4-ту добу, $p < 0,05$; ● – статистично достовірні відмінності двох показників один відносно одного при порівнянні показників груп АКМ ТС (без модифікації) та АКМ ТС+70% спирт*

(модифікована), p < 0,05; † – статистично достовірні відмінності в порівнянні з клітинами М19+АКМГІ без ЗТП на 4-ту добу, p < 0,05; ‡ – статистично достовірні відмінності порівняно з клітинами М19 + АКМ ТС + 70% спирт без ЗТП на 4-ту добу, p < 0,05; □ – статистично достовірні відмінності в порівнянні з клітинами М19 + АКМТС + 70% спирт без ЗТП на 7-му добу, p < 0,05;
♦ – статистично достовірні відмінності порівняно з клітинами М19 + АКМ ТС без ЗТП на 4-ту добу, p < 0,05.

На 7 добу інкубації клітин зі скаффолдами з ЗТП оцінка експресії Кі-67 у фібробластах показала, що порівняно з показниками клітин М19 без скаффолду і ЗТП, відбуваються наступні статистично достовірні зміни експресії Кі-67: пригнічення експресії маркера проліферації в групі «М19+АКМ ТС» на 25%, а в групі М19+АКМ ТС+20% ЗТП на 21%; підвищення експресії білка в групі М19 + АКМ ТС + 70% спирт + 10% ЗТП на 35% і в групі М19 + АКМ ТС+70% спирт + 10% ЗТП на 38,3% (див. табл. 4.5).

Результати, представлені в табл. 4.3 свідчать, що у фібробластах людини, які культивували зі скаффолдом АКМ ТС після деліпідізації на 4-ту і 7-му добу спостереження відмічали статистично достовірне підвищення експресії Кі-67 у 2 і 1,5 рази, відповідно, порівняно з клітинами М19 + АКМ ТС без модифікації. При додаванні ЗТП спостерігали подібну різницю рівня експресії маркера проліферації: в групах, де клітини співкультивували зі скаффолдом АКМ ТС після деліпідізації з 10% або 20% ЗТП відмічали вищий у 2,0–4,5 разів (на 4-ту добу) і у 1,7–1,9 разів (на 7-му добу) показник експресії Кі-67, порівняно до показників групи «М19 + АКМ ТС» (див. табл. 4.5).

Порівняльний аналіз впливу ЗТП на експресію Кі-67 в клітинах М19, за умов їх співкультивування з АКМ ГІ протягом 4 діб, показав, що лише при додаванні 20% ЗТП фіксували статистично достовірне підвищення експресії маркера на 45,8%, порівняно з клітинами М19 + АКМ ГІ без ЗТП.

На 7-му добу інкубації фібробластів з досліджуваними чинниками суттєвих змін експресії Кі-67 не спостерігали (див. табл. 4.5).

Оцінка впливу ЗТП на експресію Кі-67 у фібробластах, які культивували зі скаффолдом АКМ ТС+70% спирт, порівняно з показниками групи М19 + АКМ ТС+70% спирт без ЗТП, свідчить, що і на 4-ту, і на 7-му доби інкубації

клітин із вказаними чинниками експресія Кі-67 статистично достовірно вище при культивуванні зі ЗТП: на 29,5% (10% ЗТП) і на51% (20% ЗТП) – 4-та доба; на 27% (10% ЗТП) і на 30% (20% ЗТП) – 7-ма доба. Порівняльний аналіз експресії Кі-67 в групах, де клітини М19 інкубували з АКМ ТС і ЗТП, не виявив статистично достовірних змін дослідженого показника порівняно з групою М19 + АКМ ТС без ЗТП (див. табл. 4.3).

Отже, отримані результати аналізу експресії маркера проліферації Кі-67 у фібробластах людини, за умов їх співкультивування із різними варіантами скаффолдів і в присутності ЗТП свідчать, що зниження показників життєздатності клітин, яке було встановлено, після їх взаємодії зі скаффолдами обумовлено зменшенням їх проліферативної активності (М19+АКМ ТС), а збільшення показників життєздатності – підвищенням (М19 + АКМ ГІ + ЗТП / М19 + АКМ ТС+70% спирт / М19 + АКМ ТС + 70% спирт + ЗТП). Зазначені факти підтверджують результати дослідження показників життєздатності клітин при співкультивуванні зі скаффолдами та ЗТП.

РОЗДІЛ 5
ТЕХНОЛОГІЯ ТА МЕТОДИКИ ВИГОТОВЛЕННЯ МІНІМАЛЬНО МАНІПУЛЬОВАНИХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРОДУКТІВ, КРИТЕРІЇ ЇХ ЯКОСТІ ТА БЕЗПЕКИ НА ПРИКЛАДІ КОНЦЕНТРАТІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ТА АСПІРАТУ КІСТКОВОГО МОЗКУ

5.1 Технологія забору аутологічного біоматеріалу для виготовлення мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів

5.1.1 Процедура забору крові для виготовлення клітинних концентратів

Процедура забору крові відіграє значну роль у подальшій якості та безпеці аутологічних біотехнологічних продуктів на основі тромбоцитів та інших клітин периферичної крові [234]. В усіх пацієнтів отримували інформовану згоду на курс лікування та дослідження.

Підготовка пацієнта до процедури забору крові. За тиждень до забору крові пацієнтам відміняли прийом нестероїдних протизапальних препаратів, призначали спеціальну дієту (заборона жирної, смаженої, солоної та гострої їжі, вживання рідини до 3-х літрів на добу, заборона вживання кави) та режим відмови від тютюнопаління і вживання алкоголю. Безпосередньо перед забором крові проводили швидкий імунохроматографічний комбінований тест «ПРОФІТЕСТ» (*InTec Products. Inc*., КНР) для виявлення антитіл до вірусу імунодефіциту людини типу 1 та 2 (ВІЛ 1/2), поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAg), антитіл до вірусу гепатиту В (HBcAb), антитіл до гепатиту С (HCV), антитіл до збудника сифілісу (Treponema pallidum) (рис. 5.1).

Рисунок 5.1 – Фото техніки проведення швидкого імунохроматографічного комбінованого тесту «ПРОФІТЕСТ» (описання в тексті)

Оцінка вен. Оцінювали стан пацієнта перед венепункцією, для ідентифікації необхідної вени. У більшості випадків для забору крові використовували серединну передліктьову вену. Для забору крові важливо вибрати велику і стабільну вену. В деяких випадках, при складності візуальної ідентифікації вени для забору крові, використовували ультразвукову навігацію.

Джгут і асептична техніка. Для заповнення венозної судинної системи пацієнта використовували джгут. Перед венепункцією застосовували асептичні методи підготовки шкіри.

Під час забору пацієнт перебував в положенні лежачи задля уникнення ортостатичних реакцій. Використовували сертифіковані одноразові стерильні вироби медичного призначення. Кров відбирали шляхом венепункції.

Пункція вени. Перед виконанням венепункції вузол голки для забору крові обробляли антикоагулянтом (цитрат декстрози) для уникнення згортання крові. Кров відбирали у пробірки з антикоагулянтом - цитратом декстрози, оскільки він краще підтримує метаболічні потреби тромбоцитів та їх виділення без руйнування і краще підтримує життєдіяльність клітин [58]. Вену закріплювали шляхом натягнення шкіри, голкою проходили шкіру скосом

наконечника, спрямованим догори під кутом від 5 до 15 градусів та спрямовували у вену з її верхньої або бічної поверхні. Коли голка проходить крізь щільну тканину шкіри та стінку вени, відчувається легкий опір. При входженні голки в просвіт вени відзначається легке ослаблення опору. Якщо кров не з'являється в просвіті голки, слід її переставити. У випадку, якщо кров тече повільно, слід відрегулювати кут голки, оскільки вона може прилягати до стінки вени.

Аспірація крові. Аспірацію проводили повільно в контрольованому режимі зі швидкістю приблизно 1 мл/с, щоб запобігти спадінню вени та створенню занадто сильного негативного тиску, який може спричинити пошкодження клітин. Під час аспірації кров двічі перемішували у пробірці з антикоагулянтом, для забезпечення належного змішування, оскільки цільна кров має більшу густину, ніж антикоагулянт, і не буде належним чином самостійно змішуватися з ним під час забору, що може призводити до її згортання.

Після отримання необхідної кількості крові джгут звільняли, пробірку від'єднували і накладали стерильний ковпачок. В подальшому видаляли «метелик» та накладали на місце забору пов'язку. Пробірку перевертали за годинниковою стрілкою п'ять разів, щоб краще змішати антикоагулянт і кров.

Утилізація використаних розхідників. Використані розхідники поміщали в призначені контейнери для медичних відходів.

5.1.2 Технологія забору аспірату кісткового мозку

Проводили забір аспірату червоного кісткового мозку з гребеня клубової кістки. За даними літератури дана локація переважає інші можливі за кількістю отриманих клітин-попередників порівняно з великогомілковою та п'ятковою кістками [175].

Важливим моментом для забезпечення безпеки забору аспірату кісткового мозку є дотримання анатомічних орієнтирів у межах внутрішньої та

зовнішньої пластини гребеня клубової кістки.

Використовували три доступи для аспірації кісткового мозку [235] (рис. 5.2 а-г): передній паралельний (через крило клубової кістки) (рис. 5.2 а), задній паралельний (паралельно до задньої верхньої ості клубової кістки) (рис. 5.2 б,в) і задній перпендикулярний (перпендикулярно до задньої верхньої ості клубової кістки) (рис. 5.2 г).

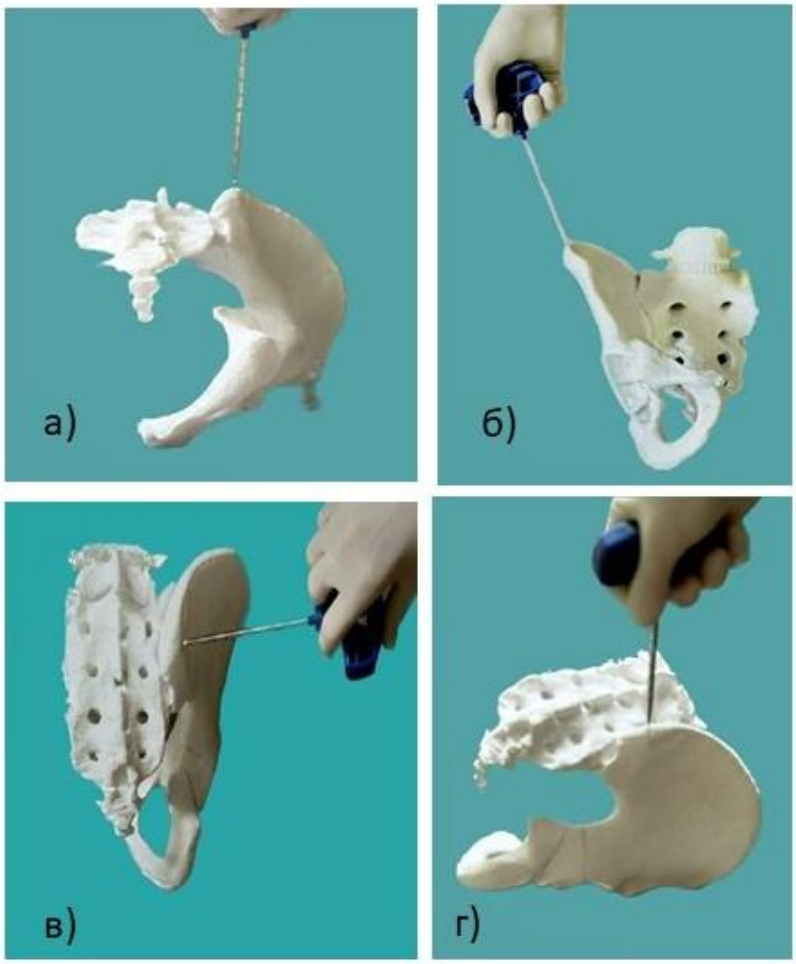


Рисунок 5.2 – Доступи до тазової кістки для забору аспірату кісткового мозку: а – передній паралельний; б, в – задній паралельний; г – задній перпендикулярний

Положення пацієнта. При передньому паралельному доступі пацієнт перебував в положенні лежачи на спині, при задньому паралельному доступі пацієнт перебував в положенні лежачи на животі або на боці, при задньому перпендикулярному доступі пацієнт перебував в положенні, лежачи на животі.

Знечулення. Процедуру аспірації кісткового мозку виконували під місцевим знечуленням 2%-ним розчином лідокаїну після обов'язкового проведення внутрішньошкірної проби. При наявності позитивного результату проби на лідокаїн, як альтернативу, використовували 0,25-0,5% розчин біпувакаїну. Місцевий анестетик використовували для контролю больового синдрому при проведенні троакара для забору аспірату кісткового мозку. Місцевим анестетиком почергово інфільтрували шкіру (за допомогою інсулінового шприца) в місці введення голки, м'які тканини та окістя спинальною голкою G22. Після введення анестетика очікували 3-5 хвилин до досягнення знечулення.

Технологія забору аспірату кісткового мозку. Для запобігання згортання кісткового мозку при проведенні аспірації використовували відповідний протокол застосування антикоагулянтів, оскільки утворення згустків перешкоджає отриманню, адекватній ізоляції та концентрації бажаного клітинного пулу аспірату. У якості антикоагулянту при заборі аспірату кісткового мозку використовували гепарин. Забір аспірату кісткового мозку виконували шприцами 10 або 20 мл. При заборі шприцом 10 мл попередньо набирали у шприц 0,5 мл гепарину (5000 МО/мл), відповідно забір шприцом 20 мл здійснювали, попередньо набравши 1 мл гепарину. Для антикоагуляції перед аспірацією кісткового мозку у кожній ділянці користувалися додатково гепарином.

Аспірацію кісткового мозку виконували троакаром 11G довжиною 100 або 150 мм, попередньо промивши його просвіт невеликим об'ємом гепарину. Після місцевого знечулення, вручну помістивши канюлю у гребінь клубової кістки, за допомогою маневру за та проти годинникової стрілки, одночасно застосовуючи осьову силу або притискаючи троакар до кістки, проштовхували

канюлю через кортикальний шар. Після проходження кортикального шару кістки, відчували певне полегшення руху троакару, після чого заглиблювалися у спонгіозний шар клубової кістки ще на 0,5 см. Впевнившись у стабільному положенні троакару в товщі кістки під'єднували шприц Luer-Lock. Після під'єнання шприца слід обережно потягнути його поршень на себе, без значних зусиль та переконатися в наявності аспірації кісткового мозку у його просвіт. Впевнившись у наявності аспірату, подальший забір також слід виконувати повільно, оскільки значні зусилля під час аспірації посилять больовий синдром у пацієнта (рис. 5.3).

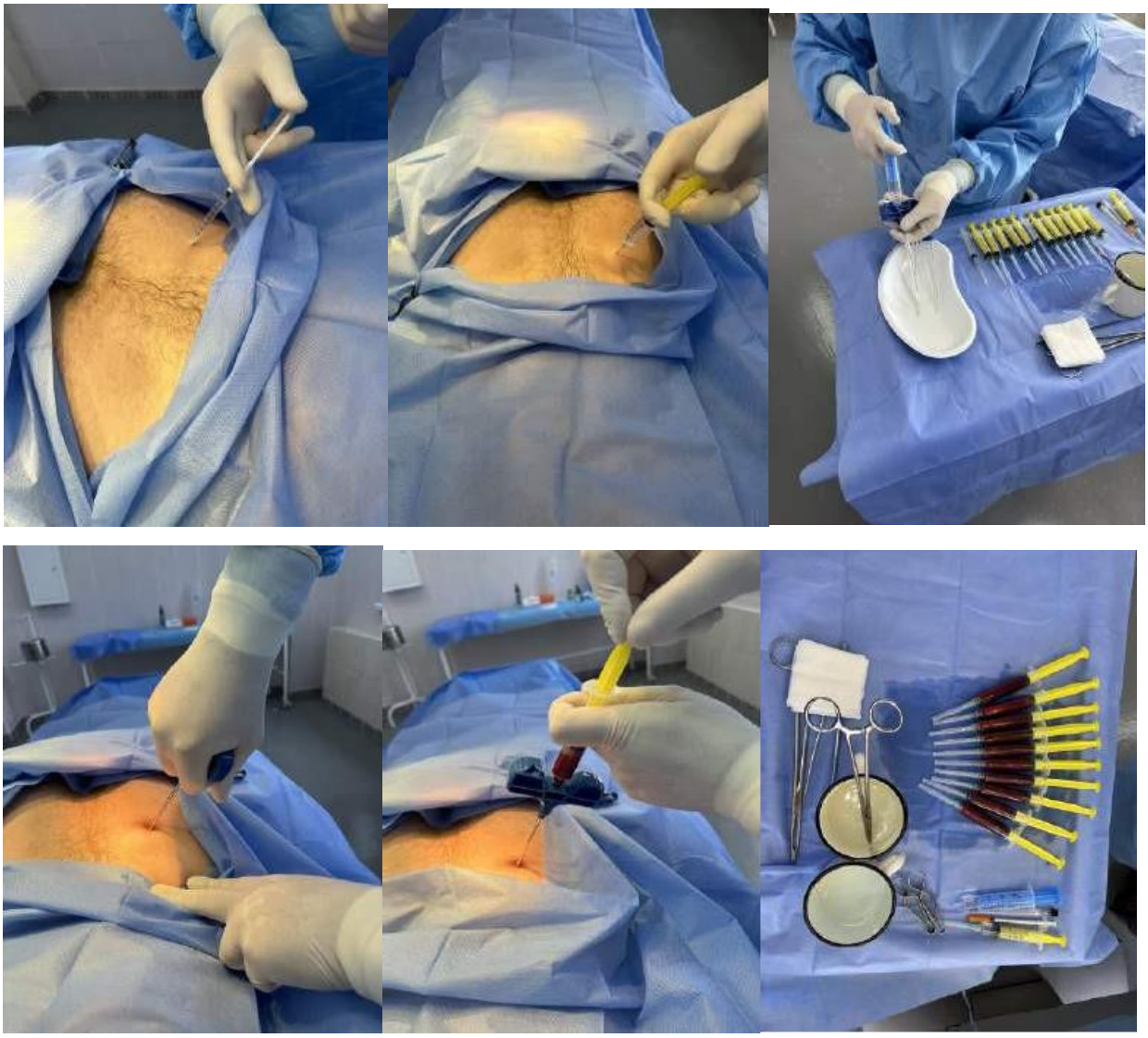


Рисунок 5.3 – Фото етапів забору аспірату кісткового мозку з заднього паралельного доступу (пояснення в тексті)

Забір кісткового мозку з однієї локації призводить до зниженя кількості мезенхімальних стовбурових клітин через розведення периферичною кров'ю, тому після наповнення 2-3 шприців з однієї локації, змінювали глибину забору. Отримували 100 мл аспірату для виділення однієї дози мононуклеарної фракції (МФАКМ) або 60 мл для виділення однієї дози концентрованого аспірату кісткового мозку (КАКМ, *англ. BMAC*). Для отримання кількох доз, проводили забір аспірату з кількох доступів.

За потреби використовували для навігації УЗД або С-дугу.

Після завершення процедури забору аспірату кісткового мозку рекомендували пацієнту перебувати у горизонтальному положенні на животі протягом 15 хвилин для стабілізації внутрішньокісткового тиску.

5.1.3 Технологія забору ліпоаспірату для виділення стромально-васкулярної фракції жирової тканини

Положення пацієнта на операційному столі. Перед проведенням ліпоаспірації необхідно визначитися з місцем забору. Зазвичай варто обирати ділянку, яка містить найбільше жирової тканини. Найбільш типовими ділянками є нижня частина живота, бічна частина стегна, бокова частина живота та сіднична ділянка.

При заборі з нижньої частини живота - позиція пацієнта на спині. При боковому доступі через живіт, а також при стегновому та сідничному доступі-положення пацієнта, відповідно, лежачи на боці. Тобто положення пацієнта, лежачи на боці вважаємо варіантом вибору, оскільки воно дає можливість зробити ліпоаспірацію відразу з трьох доступів.

Знечулення. Для знечулення під час забору жирової тканини важливо використовувати анестетики, які мають мінімальну токсичність для життєздатності клітин, зокрема адипоцитів.

Використовували туменесцентну суміш, задля профілактики кровотечі та контролю больового синдрому, яка мала наступний склад:

- 500 мл 0,9% розчину натрію хлориду,
- 25 мл 2% лідокаїну,
- 2 ампули адреналіну 1:1000,
- 10 мл 8,4% бікарбонату натрію.

У випадку позитивної проби або наявності алергії на лідокаїн в анамнезі у якості анестетика в туменесцентній суміші використовували 0,25–0,5% біпувакаїн.

Технологія ліпоаспірації. При першому досвіді забору ліпоаспірату рекомендуємо використовувати ультразвукову навігацію для визначення оптимальної ділянки для забору жирової тканини.

Після визначення ділянки забору жирової тканини виконували розріз до 0,5 см. Через канюлю вводили туменесцентну суміш об’ємом 200–300 мл в кожну ділянку забору жирової тканини. Суміш вводиться віялоподібно, після введення необхідного об’єму ділянка забору має стати напруженою та припухлою. Після знечулення час очікування для забору жирової тканини має скласти не менше 15 хвилин. По завершенні часу очікування канюлю тупим кінцем можна вставити у місце забору та спробувати розпочати проведення ліпоаспірації. При відсутності больових відчуттів у пацієнта слід під'єднати ліпоаспіраційну канюлю вакуумним блокуючим шприцем об’ємом 20–60 мл. Аспірацію слід виконувати, використовуючи рухи «вперед-назад» у ділянках, які були знечулені до отримання необхідного об'єму ліпоаспірату (рис. 5.4).

Після завершення ліпоаспірації накладали стерильну пов'язку та використовували пакети з льодом на місце забору. Протягом тижня після забору рекомендували носити компресійний одяг для запобігання післяопераційних ускладнень у вигляді сером або гематом. Слід уникати застосування нестероїдних протизапальних препаратів після ін’єкції.

Рисунок 5.4 – Фото етапів процедури забору ліпоаспірату (пояснення в тексті)

Після забору слід перевірити показники пульсу та артеріального тиску пацієнта, щоб переконатися, що вони знаходяться в межах норми. Пацієнту слід розповісти про ризик кровотечі протягом перших кількох годин після процедури та рекомендувати уникати фізичних навантажень протягом 72 годин після проведення процедури ліпоаспірації.

5.2 Протоколи виділення мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів для регенеративних інтервенційних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів

5.2.1. Виділення аутологічних концентратів периферичної крові

Для приготування ***збідненої тромбоцитами плазми*** [234] проводили забір 18 мл венозної крові у вакуумні пробірки об'ємом 9 мл з антикоагулянтом цитратом декстрози (BD Vacutainer, США). Центрифугували при 1500 обертах 415 g протягом 10 хв за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія) та відбирали плазму крові в нові пробірки об'ємом 10 мл без перемішування. Після цього відібрану плазму центрифугували при 3500 обертах 2260 g протягом 5 хв. Відбирали готовий препарат/плазму в потрібному об’ємі, решту видаляли (рис. 5.5).

Рисунок 5.5 – Фото етапів отримання збідненої на тромбоцити плазми (пояснення в тексті)

Для приготування препарату ***лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми*** проводили забір 54 мл венозної крові у вакуумні пробірки Vacutainer об'ємом 9 мл з антикоагулянтом цитратом декстрози (*BD*, США). Після відбору

венозну кров центрифугували при 1500 обертах 415 g для розділення плазми та формених елементів крові за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія). Після центрифугування за допомогою піпетки Пастера піднімали клітини у плазму з верхнього шару осаду (buffy coat), який містить лейкоцити та тромбоцити. Після цього плазму крові об'ємом 30 мл з шаром клітин ("buffy coat") переносили в нові пробірки об'ємом 9 мл з круглим дном та центрифугували при 3500 обертах 2260 g. Піпеткою Пастера з градуйованою шкалою відбирали усю плазму, 3 мл якої використовували для ресуспендування клітинного осаду. Об'єм продукту в 3 мл є оптимальним для введення в суглоб пацієнта з метою запобігання больових відчуттів при ін'єкції від надлишку введеної рідини, тому він був обраний для дослідження. Більшу частину (близько 90%) плазми, збідненої на тромбоцити видаляли (рис. 5.6).

Рисунок 5.6 – Фото етапів отримання лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми (пояснення в тексті)

Для приготування ***збідненої на лейкоцити (малолейкоцитарної) збагаченої тромбоцитами плазми*** [234] проводили забір 54 мл венозної крові у вакуумні пробірки об'ємом 9 мл з антикоагулянтом - цитратом декстрози (BD Vacutainer, США). Плазму крові після першого центрифугування при 1500 обертах 415 g протягом 10 хв за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія) відбирали в нові пробірки об'ємом 10 мл без перемішування для зменшення вмісту лейкоцитів в ній. Після цього відібрану плазму центрифугували при 3500 обертах 2260 g протягом 5 хв. Отриманий осад, що містив тромбоцити, також ресуспендували в 3 мл плазми збідненої тромбоцитами, решту плазми видаляли (рис. 5.7).

Рисунок 5.7 – Фото етапів отримання малолейкоцитарної збагаченої томбоцитами плазми (пояснення в тексті)

Для приготування ***гіперконцентрованої аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми*** [234] (HD PRP – High-density Platelet Rich Plasma) за допомогою стерильної системи відбирали 54 мл периферичної крові у вакуумні пробірки з цитратом декстрози як антикоагулянтом (Vacumed, Італія). Цільну

кров центрифугували для розділення плазми та формених елементів при 3430 обертах 2170 g протягом 2 хв за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія). Обережно відбирали плазму (верхню фракцію), переносили у вакуумні пробірки з круглим дном Vacutainer (Італія) об'ємом 9 мл без наповнювача та центрифугувати при 3430 обертах 2170 g протягом 5 хв. Збирали надосад із збідненої тромбоцитами плазми, 2 мл з якого використовували для ресуспендування тромбоцитів. Усі маніпуляції з біологічним матеріалом проводили з дотриманням асептичних умов в ламінарному боксі DFZ-M680 (Україна) для захисту продукту від контамінації (рис. 5.8).

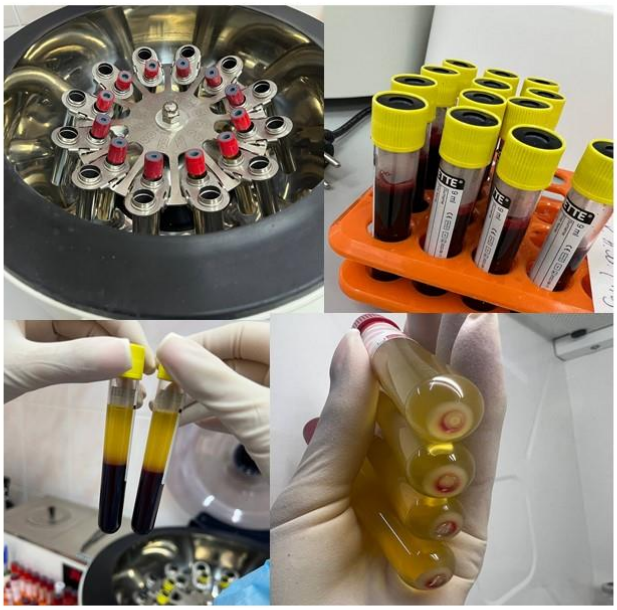


Рисунок 5.8 – Фото етапів отримання гіперконцентрованої збагаченої тромбоцитами плазми (пояснення в тексті)

Для приготування ***аутологічного кріолізату тромбоцитів*** [234] відбирали 120 мл периферичної крові з антикоагулянтом. Забір крові проводився за допомогою стерильного шприца 10 мл з голкою 22G в стерильні пластикові пробірки об’ємом 50 мл з доданим антикоагулянтом (цитрат декстрози) - 10% від загального об’єму. Цільну кров центрифугували для

розділення плазми та формених елементів при 1500 обертах 415 g протягом 15 хвилин за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія). Плазму переносили в чисті пробірки без наповнювача (Vacumed, Італія) та центрифугували при 3430 обертах 2170 g протягом 5 хв. Збирали супернатант, осад з концентратом тромбоцитів відбирали в окрему пробірку 50 мл, куди за допомогою градуйованої піпетки Пастера додавали плазму об'ємом 18 мл.

Усі маніпуляції з біологічним матеріалом проводили з дотриманням асептичних умов в ламінарному боксі DFZ-M680 (Україна) для захисту продукту від контамінації (рис. 5.9).

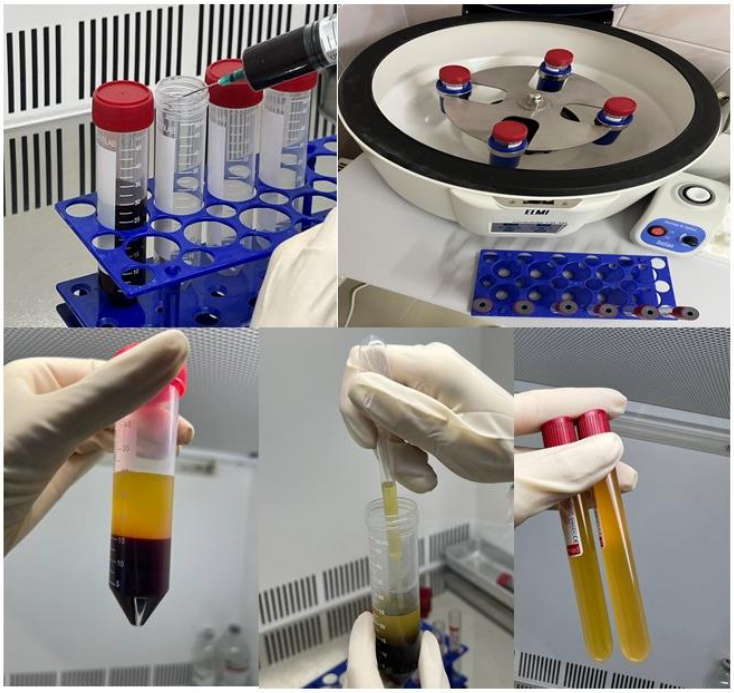


Рисунок 5.9 – Фото етапів отримання аутологічного кріолізату тромбоцитів (пояснення в тексті)

Отриману суспензію розділяли на аліквоти по 3 мл в кріопробірки та зберігали в кріокамері при температурі -20 ºС (рис. 5.10).

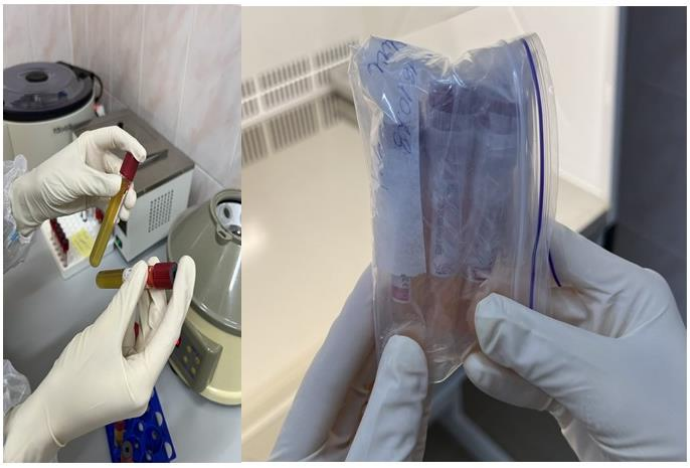


Рисунок 5.10 – Фото підготовки аутологічного кріолізату тромбоцитів до кріоконсервації (пояснення в тексті)

Перед використанням кріолізат розморожували на водяній бані Micromed ВБ-4 (ХТМЕ-205) (Україна) при температурі 37ºС протягом 10 хв. Центрифугували суспензію при 150 g протягом 5 хв. Відбирали надосад стерильним шприцем. Усі маніпуляції з біологічним матеріалом проводили в ламінарному боксі.

5.2.2 Виділення аутологічних концентратів аспірату кісткового мозку

Виділення мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку. Використовуали наступні матеріали та обладнання: пробірки без наповнювача об'ємом 50 мл, 0,9 %-ний розчин натрію хлориду, фікол-вірографін (Histopaque-1077), розчин Хартмана, автоматичну піпетку, бокс біобезпеки І класу, центрифугу.

Вносили по 12,5 мл фікол-вірографіну кімнатної температури у 4 пробірки об'ємом 50 мл. Обережно нашаровували на фікол-вірографін по 25 мл аспірату кісткового мозку. Центрифугували аспірат у градієнті щільності при 1500 обертах 415 g протягом 17 хвилин за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія). Обережно відбирали та відкидали до 0.5 см верхньої фракції

до кільця мононуклеарів. Фракцію з мононуклеарами відбирали у нові пробірки об'ємом 50 мл. Додавали 30 мл розчину Хартмана, суспензію ретельно піпетували. Центрифугували отриману суміш при 1500 обертах 415 g протягом 5 хв. Супернатант зливали, осад ресуспендувати в 30 мл розчину Хартмана. Отриману суспензію центрифугували при 1500 обертах 415 g протягом 5 хв. Супернатант знову зливали. До осаду додавали близько 3 мл розчину Хартмана або аутологічної плазми пацієнта. Після ретельного піпетування суспензію відбирали в шприц для ін'єкцій типу Luer-Lock. Усі маніпуляції проводили в ламінарному боксі (рис. 5.11).

Рисунок 5.11 – Фото етапів отримання мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку (пояснення в тексті)

Виділення концентрованого аспірату кісткового мозку. Після забору 60 мл аспірату кісткового мозку матеріал переносився в пробірки та проводилося центрифугування при 1500 обертах 415 g протягом 10 хв за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія).

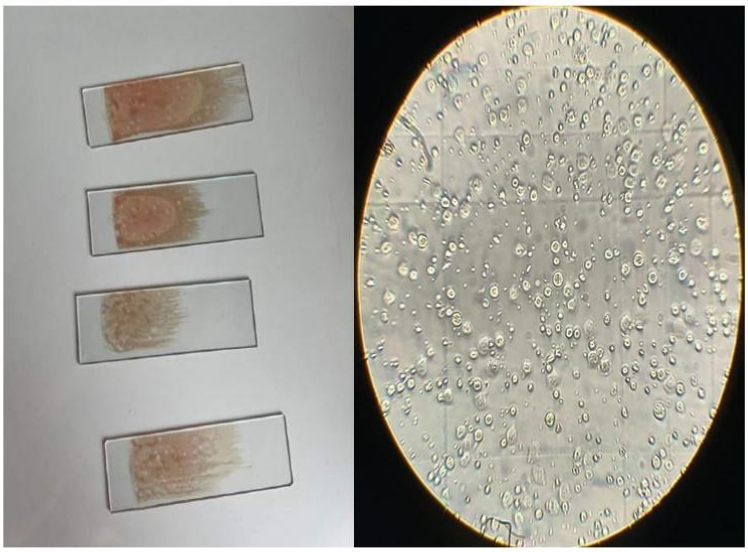
Після першого центрифугування відбирали надосад, переносили в нові стерильні пробірки. Отриманий надосад центрифугували при 2500 обертах 1150 g протягом 5 хв.

Осад ресуспендували в 1–3 мл плазми аспірату кісткового мозку та відбирали в стерильний одноразовий шприц (рис. 5.12).

Рисунок 5.12 – Фото етапів отримання мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку (пояснення в тексті)

Виготовлення мазка аспірату кісткового мозку для підрахунку клітинного складу. Взявши предметне скло за довгі краї, торкалися його поверхнею (відступивши 0,5-1 см від вузького краю) до краплі аспірату (але не до шкіри). Предметне скло тримали на столі або в лівій руці за вузькі краї. Правою рукою приставляли шліфоване скло вузьким краєм до скла з аспіратом зліва від краплі під кутом 45° і просували його праворуч до контакту з біологічною рідиною. Очікували, поки аспірат розповсюдиться по всьому ребру шліфованого скла і потім легким швидким рухом, проводили справа наліво доти, поки не буде вичерпана вся крапля. Крапля аспірату повинна бути

невеликого розміру, і її потрібно розмістити так, щоб весь мазок містився на склі, не доходячи 1-1,5 см до його краю. Не можна припиняти розмазування і віднімати скло раніше, ніж крапля буде вичерпана. Не можна також сильно натискати на скло, так як багато клітин можуть виявитися пошкодженими. Добре зроблений мазок тонкий, має жовтуватий колір (рис. 5.13 а,б).



а) б)

Рисунок 5.13 - Фото коректно виконаного мазка аспірату кісткового мозку: а – макроскопічна візуалізація, б – мікроскопічна візуалізація

Після приготування мазки швидко висушували на повітрі до зникнення вологого блиску. При повільному висиханні може змінюватися морфологія клітин. На висушеному мазку куточком предметного скла або олівцем (тільки не хімічним) писали прізвище, ініціали хворого, дату забору матеріалу та дату виготовлення мазка.

Отримання стромально-васкулярної фракції із жирової тканини ферментним методом (SVF – Stromal-Vascular Fraction). Необхідні матеріали та обладнання: пробірки об'ємом 50 мл, конічні колби, 0.9%-ний розчин натрію хлориду, розчин колагенази (0.3 U/мл), автоматична піпетка, бокс біобезпеки 2

класу, центрифуга, водяна баня.

Першим етапом відстоювали отриманий ліпоаспірат протягом 15 хв для його сепарації від розчину Кляйна, після чого видаляли залишки останнього. Попередньо у флакон з колагеназою вносили 1 мл розчину Хартмана та ретельно змішували. В одноразовий стерильний шприц Luer-Lock 10 мл відбирали 1 мл отриманої суміші та додавали ще 9 мл розчину Хартмана. В кожен шприц з ліпоаспіратом додавали 10% від його загального об’єму отриману суміш розчинів колагенази та Хартмана. З'єднували 2 шприца з отриманим ліпоаспіратом за допомогою спеціального з'єднувача та перемішували їх вміст до повної гомогенізації. Вносили отриманий гомогенізат в пробірки по типу Falcon об’ємом 50 мл та попарно урівноважували для підготовки до подальшого центрифугування. Поміщали пробірки в термостат ТС-80М-2 при температурі 37ºС на 10 хв. Діставали пробірки та перемішували їх вміст. Дану процедуру повторювали 5 разів, до моменту доки суспензія не набувала яскраво-жовтого забарвлення (рис. 5.14).

Рисунок 5.14 - Фото першого етапу виділення ферментної стромально-васкулярної фракції жирової тканини (пояснення в тексті)

На другому етапі центрифугували суспензію при 2000 обертах 740 g протягом 10 хв за допомогою центрифуги Elmi CM-6 MT (*Elmi*, Латвія). Відбирали та видаляли верхній шар отриманого продукту. Додавали в пробірку з залишковим середнім та нижнім шаром розчин Хартмана у співвідношенні 1:1 та ретельно перемішували вміст. Центрифугували при 2000 обертах 740 g протягом 5хв. Відбирали та видаляли надосад в повному об'ємі. До отриманого осаду додавали 40 мл розчину Хартмана та повторно центрифугували при 2000 обертах 740 g протягом 5хв. Повторно відбирали та видаляли надосад. Отриманий клітинний концентрат (осад) розводили у 5 мл розчину Хартмана Усі маніпуляції з біологічним матеріалом проводили в ламінарному боксі (рис. 5.15).

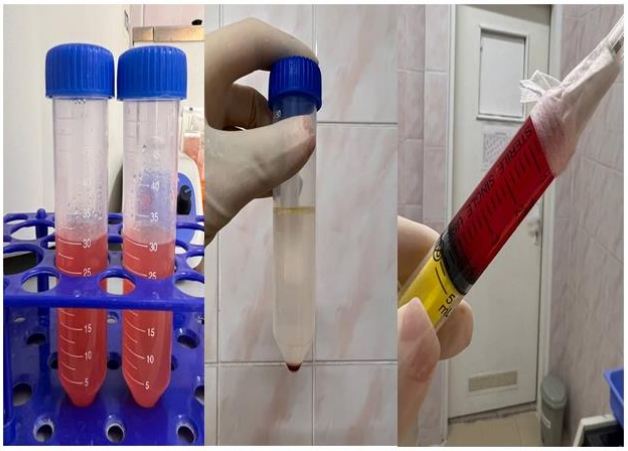


Рисунок 5.15 – Фото другого етапу виділення ферментної стромально-васкулярної фракції жирової тканини (пояснення в тексті)

Отримання стромально-васкулярної фракції із жирової тканини безферментним методом (мікрофрагментована жирова тканина) (MFAT-Microfragmented Adipose Tissue). Для виготовлення однієї дози мікрофрагментованого жиру забирали в шприц ємністю 50 мл 25–30 мл жирової тканини. Додавали відповідно 20-25 мл 0,9%-ного розчину натрію хлориду та відстоювали протягом 1–2 хв. для осідання залишків крові та

лідокаїну. Зливали відстояну рідину в окрему ємність, залишаючи в шприці лише надосад. Повторювали дану процедуру кілька разів, доки не отримували продукт оранжевого кольору об'ємом 10 мл. За допомогою конектора для з'єднання шприців переміщували отриманий субстрат в шприц ємністю 10 мл. Під'єднували до конектора ще один шприц ємністю 10 мл замість шприца 50 мл та перемішували біотехнологічний продукт, переміщаючи його з одного шприца в інший 30–40 разів до зміни кольору на більш світлий. Розподіляли отриману субстанцію у 2 шприці по 5 мл та фільтрували за допомогою фільтра для отримання мікрофрагментованого жиру (рис. 5.16).

Рисунок 5.16 – Фото виділення мікрофрагментованої жирової тканини (пояснення в тексті)

5.3 Критерії якості та безпеки аутологічних біотехнологічних продуктів на прикладі концентратів периферичної крові та аспірату кісткового мозку

5.3.1 Критерії якості та безпеки ін'єкційних тромбоконцентратів периферичної крові

Залежно від застосування біотехнологічного продукту у пацієнтів з

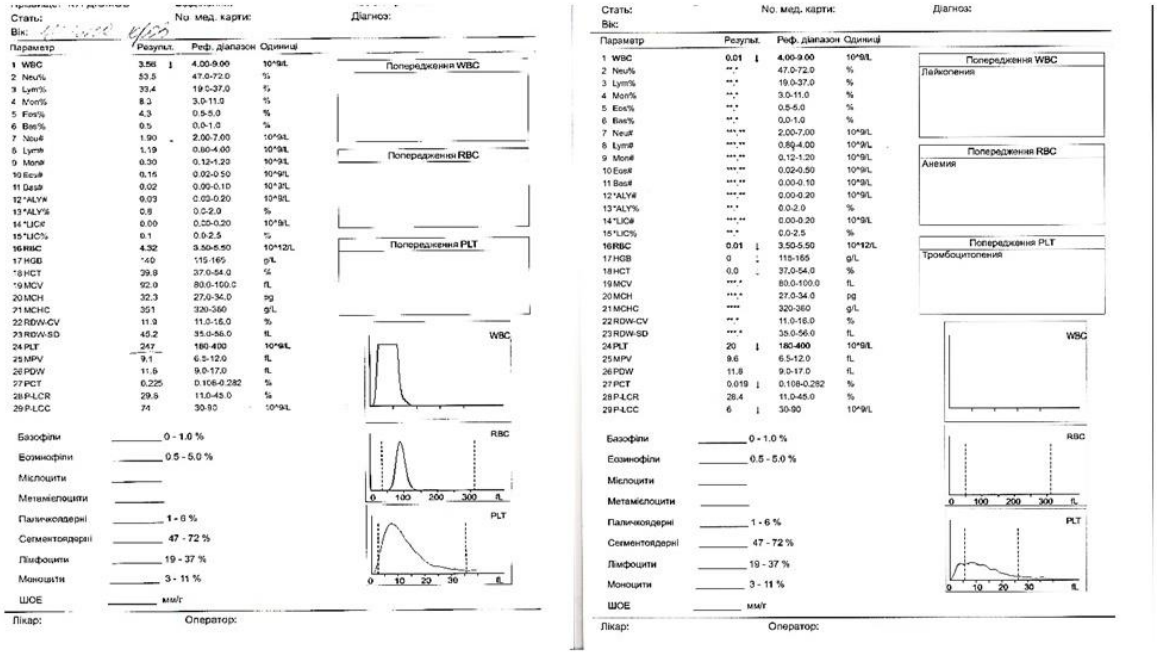
різними діагнозами, цілеспрямовано виготовляли з аутологічної периферичної крові різні варіанти біотехнологічних продуктів, які класифікували залежно від кількості тромбоцитів, лейкоцитів та їх співвідношення [234].

Щоб досягти необхідного вмісту клітин враховували вихідний рівень тромбоцитів та лейкоцитів в зразку крові і, за потреби, коригували об'єм забору крові, або об'єм плазми для ресуспендування отриманого осаду, щоб отримати той чи інакший варіант продукту.

За результатами виготовлення біотехнологічних продуктів з аутологічних тромбоцитів розробили наступну класифікацію [234].

За концентрацією тромбоцитів:

- *збіднена на тромбоцити плазма* (поодинокі тромбоцити у одиниці об'єму продукту), на рис. 5.17 (а, б) представлено результат загального аналізу цільної крові та збідненої на тромбоцити плазми пацієнта К. (№ історії хвороби 580106).

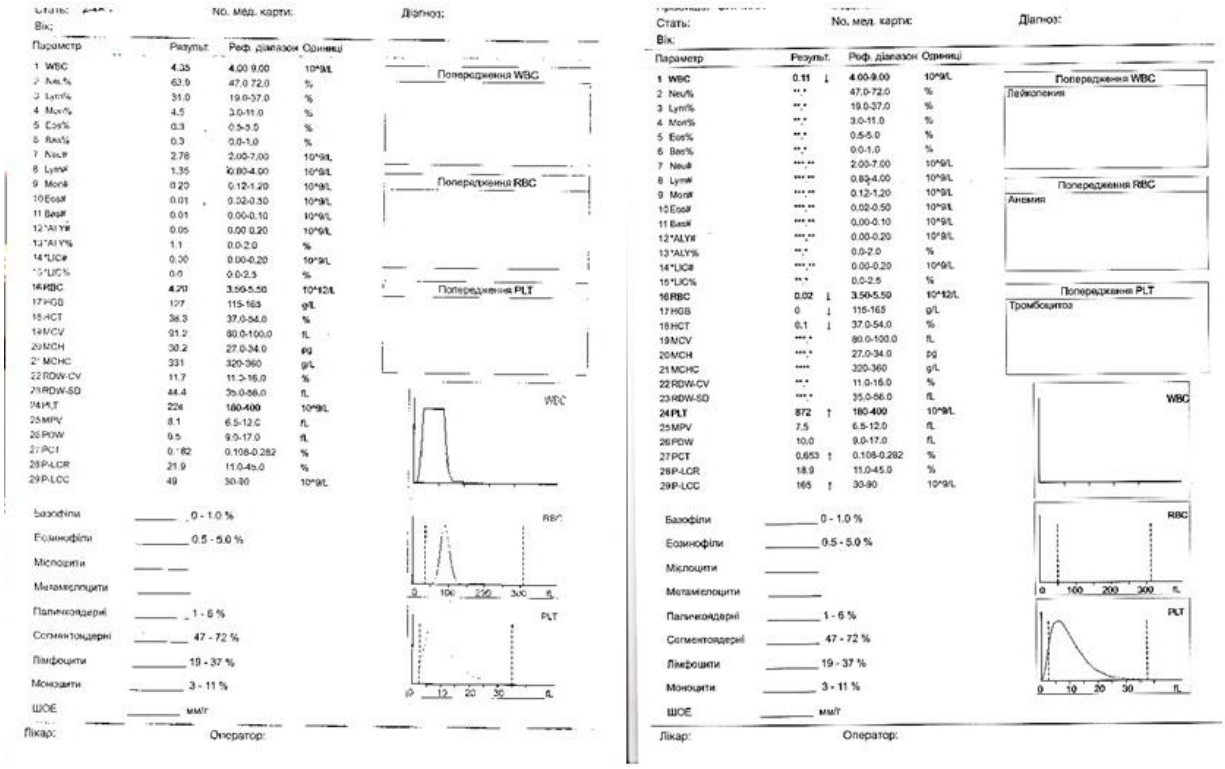


а) б)

Рисунок 5.17 – Результат загального аналізу цільної крові та збідненої на тромбоцити плазми пацієнта К. (№ історії хвороби 580106)

Так, в загальному аналізі цільної крові бачимо, що концентрація тромбоцитів складає 247×10⁹/л, в аналізі біотехнологічного продукту рівень тромбоцитів знижено в понад 10 разів, до 20×10⁹/л.

- *збагачена тромбоцитами плазма* плазмового типу (кількість тромбоцитів у біотехнологічному продукті більше початкової концентрації в крові, але менше 1 млн на 1 мкл), на рис. 5.18 (а, б) представлено результат загального аналізу цільної крові та збагаченої тромбоцитами плазми плазмового типу пацієнтки С. (№ історії хвороби 578558).

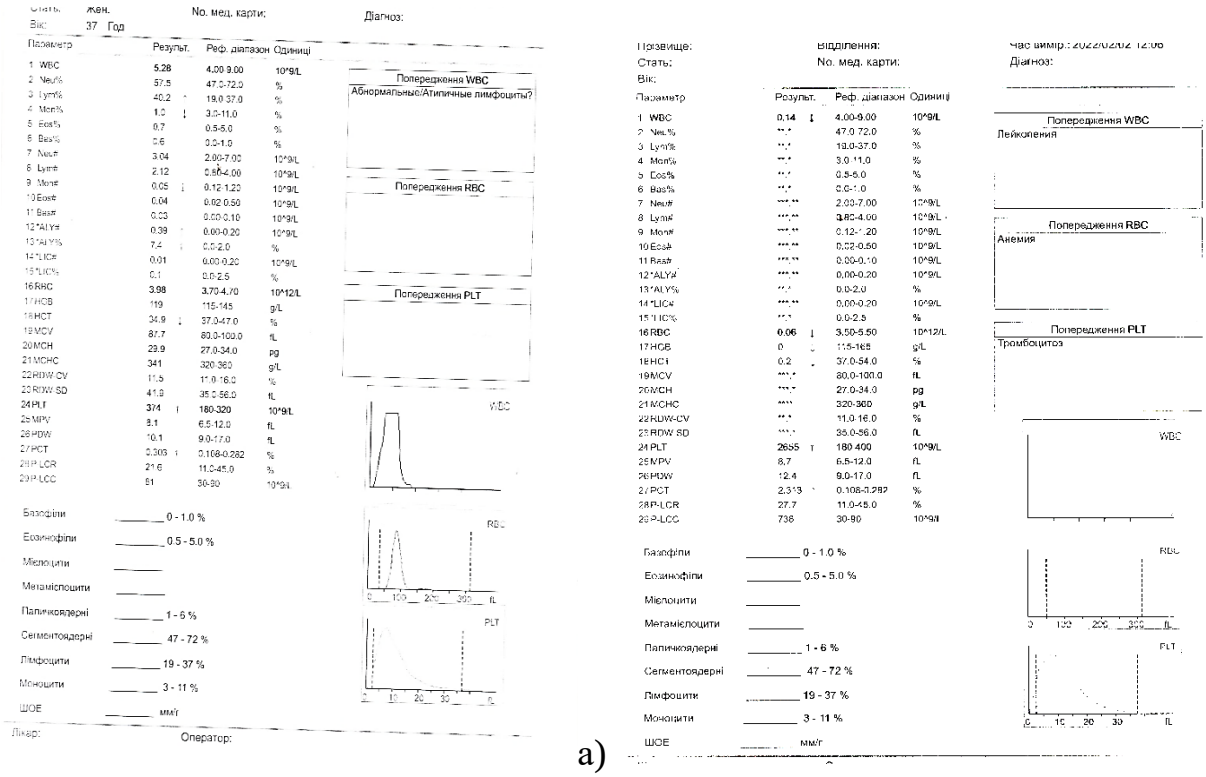


а) б)

Рисунок 5.18 – Результат загального аналізу цільної крові та збагаченої тромбоцитами плазми плазмового типу пацієнтки С. (№ історії хвороби 578558)

Так, в загальному аналізі цільної крові бачимо, що концентрація тромбоцитів складає 224×10⁹/л, в аналізі біотехнологічного продукту рівень тромбоцитів збільшено майже в понад 4 рази, до 872×10⁹/л, але вона менше 1 млн/мкл.

- *«класична» збагачена тромбоцитами плазма* (кількість тромбоцитів у біотехнологічному продуктів складає 1–3 млн на 1 мкл), на рис. 5.19 (а, б) представлено результат загального аналізу цільної крові та збагаченої тромбоцитами плазми плазмового типу пацієнтки Р. (№ історії хвороби 578501).



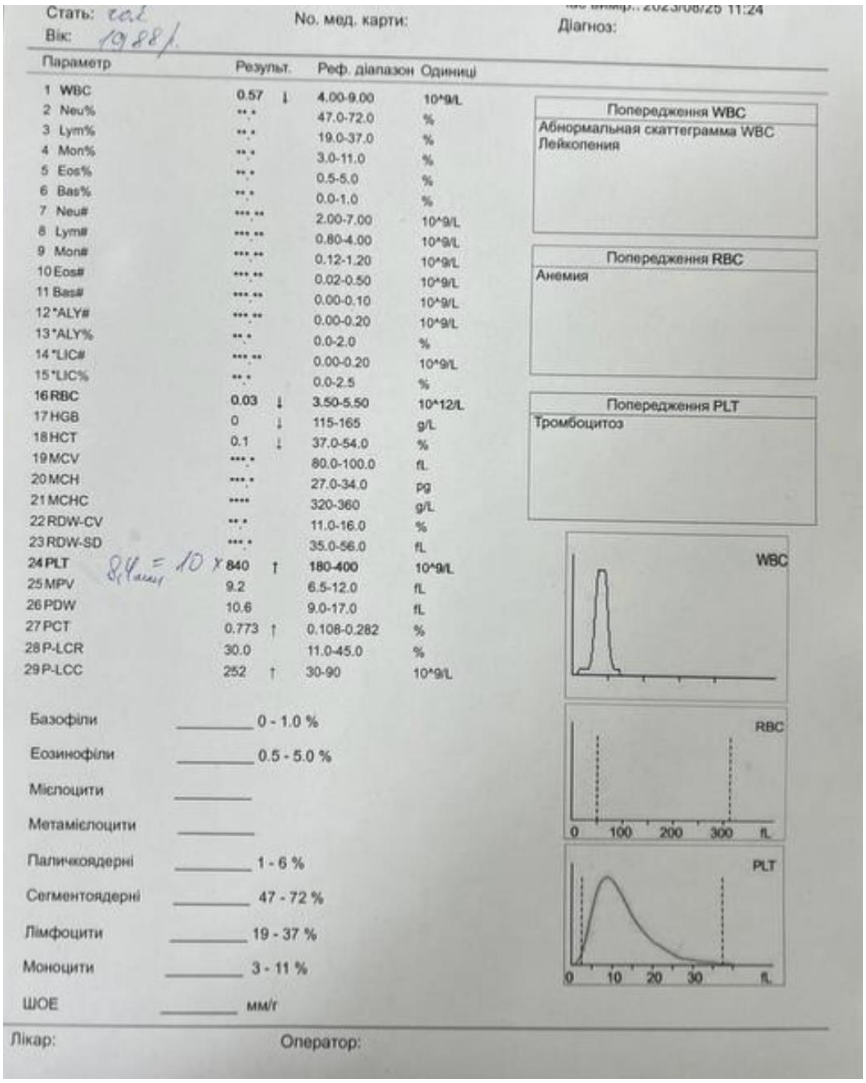
а) б)

Рисунок 5.19 – Результат загального аналізу цільної крові та «класичної» збагаченої тромбоцитами плазми плазмового типу пацієнтки С. (№ історії хвороби 578501)

Так, в загальному аналізі цільної крові бачимо, що концентрація тромбоцитів складає 374×10⁹/л, в аналізі біотехнологічного продукту рівень тромбоцитів збільшено майже в понад 8 разів, до 2655×10⁹/л, тобто понад 1 млн/мкл.

- *концентрована збагачена тромбоцитами плазма* (кількість тромбоцитів у біотехнологічному продукті складає 3–10 млн на 1 мкл); на

рис. 5.20 представлено результат аналізу концентрованої збагаченої тромбоцитами плазми пацієнта Г. (№ історії хвороби 594463).



Стать: ж.
Вік: 1988 р.
No. мед. карти:
Діагноз:

Параметр	Результ.		Реф. діапазон	Одиниці
1 WBC	0.57	↓	4.00-9.00	10^9/L
2 Neu%	**.*		47.0-72.0	%
3 Lym%	**.*		19.0-37.0	%
4 Mon%	**.*		3.0-11.0	%
5 Eos%	**.*		0.5-5.0	%
6 Bas%	**.*		0.0-1.0	%
7 Neu#	***.**		2.00-7.00	10^9/L
8 Lym#	***.**		0.80-4.00	10^9/L
9 Mon#	***.**		0.12-1.20	10^9/L
10 Eos#	***.**		0.02-0.50	10^9/L
11 Bas#	***.**		0.00-0.10	10^9/L
12 *ALY#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
13 *ALY%	**.*		0.0-2.0	%
14 *LIC#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
15 *LIC%	**.*		0.0-2.5	%
16 RBC	0.03	↓	3.50-5.50	10^12/L
17 HGB	0	↓	115-165	g/L
18 HCT	0.1	↓	37.0-54.0	%
19 MCV	***.*		80.0-100.0	fL
20 MCH	***.*		27.0-34.0	pg
21 MCHC	****		320-360	g/L
22 RDW-CV	**.*		11.0-16.0	%
23 RDW-SD	***.*		35.0-56.0	fL
24 PLT	840	↑	180-400	10^9/L
25 MPV	9.2		6.5-12.0	fL
26 PDW	10.6		9.0-17.0	fL
27 PCT	0.773	↑	0.108-0.282	%
28 P-LCR	30.0		11.0-45.0	%
29 P-LCC	252	↑	30-90	10^9/L

84 тис. = 10 ×

Попередження WBC
Абнормальная скаттеграмма WBC
Лейкопения

Попередження RBC
Анемия

Попередження PLT
Тромбоцитоз

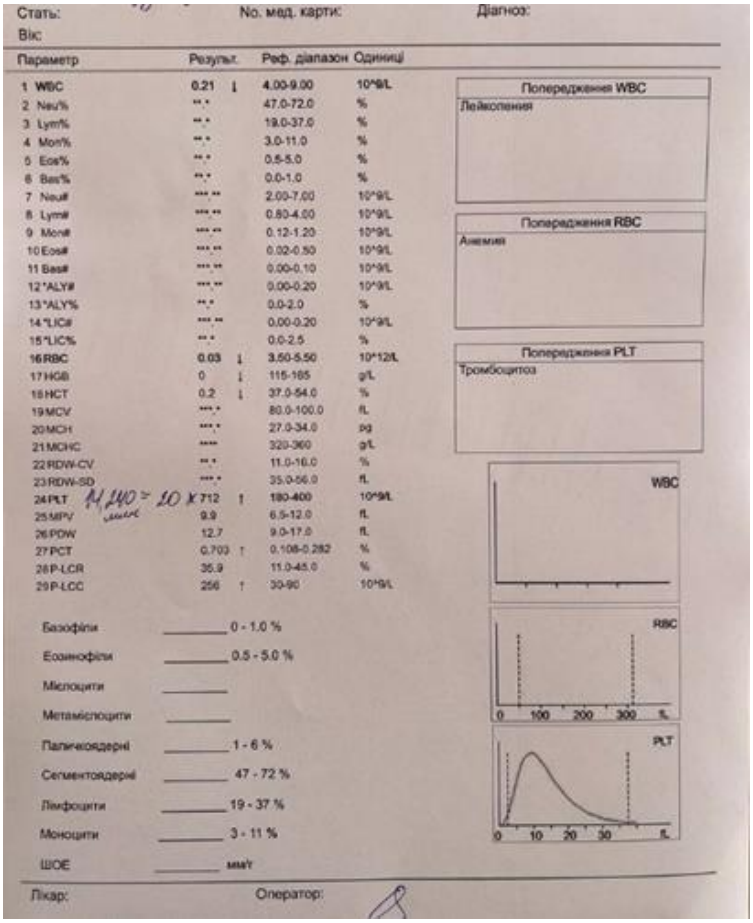
Базофіли _____ 0 - 1.0 %
Еозинофіли _____ 0.5 - 5.0 %
Міслоцити _____
Метамієлоцити _____
Паличкоядерні _____ 1 - 6 %
Сегментоядерні _____ 47 - 72 %
Лімфоцити _____ 19 - 37 %
Моноцити _____ 3 - 11 %
ШОЕ _____ мм/г

Лікар:
Оператор:

Рисунок 5.20 – Результат аналізу концентрованої збагаченої тромбоцитами плазми пацієнта Г. (№ історії хвороби 594463)

Так, в аналізі біотехнологічного продукту бачимо, що концентрація тромбоцитів складає 8400×10⁹/л, в тобто понад 8 млн/мкл.

- *гіперконцентрована збагачена тромбоцитами плазма* (кількість тромбоцитів у біотехнологічному продукті складає понад 10 млн на 1 мкл), на рис. 5.21 представлено результат загального аналізу гіперконцентрованої збагаченої тромбоцитами плазми пацієнта П. (№ історії хвороби 595813).



Стать: No. мед. карти: Діагноз:
Вік:

Параметр	Результ.		Реф. діапазон	Одиниці
1 WBC	0.21	↓	4.00-9.00	10^9/L
2 Neu%	**.*		47.0-72.0	%
3 Lym%	**.*		19.0-37.0	%
4 Mon%	**.*		3.0-11.0	%
5 Eos%	**.*		0.5-5.0	%
6 Bas%	**.*		0.0-1.0	%
7 Neu#	***.**		2.00-7.00	10^9/L
8 Lym#	***.**		0.80-4.00	10^9/L
9 Mon#	***.**		0.12-1.20	10^9/L
10 Eos#	***.**		0.02-0.50	10^9/L
11 Bas#	***.**		0.00-0.10	10^9/L
12 *ALY#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
13 *ALY%	**.*		0.0-2.0	%
14 *LIC#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
15 *LIC%	**.*		0.0-2.5	%
16 RBC	0.03	↓	3.50-5.50	10^12/L
17 HGB	0	↓	115-165	g/L
18 HCT	0.2	↓	37.0-54.0	%
19 MCV	***.*		80.0-100.0	fL
20 MCH	***.*		27.0-34.0	pg
21 MCHC	****		320-360	g/L
22 RDW-CV	**.*		11.0-16.0	%
23 RDW-SD	***.*		35.0-56.0	fL
24 PLT	712	↑	180-400	10^9/L
25 MPV	9.9		6.5-12.0	fL
26 PDW	12.7		9.0-17.0	fL
27 PCT	0.703	↑	0.108-0.282	%
28 P-LCR	35.9		11.0-45.0	%
29 P-LCC	256	↑	30-90	10^9/L

14 240 = 20 × 712

Попередження WBC
Лейкопенія

Попередження RBC
Анемія

Попередження PLT
Тромбоцитоз

Базофіли	_____	0 - 1.0 %
Еозинофіли	_____	0.5 - 5.0 %
Міелоцити	_____	
Метамієлоцити	_____	
Паличкоядерні	_____	1 - 6 %
Сегментоядерні	_____	47 - 72 %
Лімфоцити	_____	19 - 37 %
Моноцити	_____	3 - 11 %
ШОЕ	_____	мм/г

Лікар: Оператор:

Рисунок 5.21 – Результат аналізу гіперконцентрованої збагаченої тромбоцитами плазми пацієнта П. (№ історії хвороби 595813)

Так, в аналізі біотехнологічного продукту бачимо, що концетрація тромбоцитів складає 14200×10⁹/л, в тобто понад 14 млн/мкл.

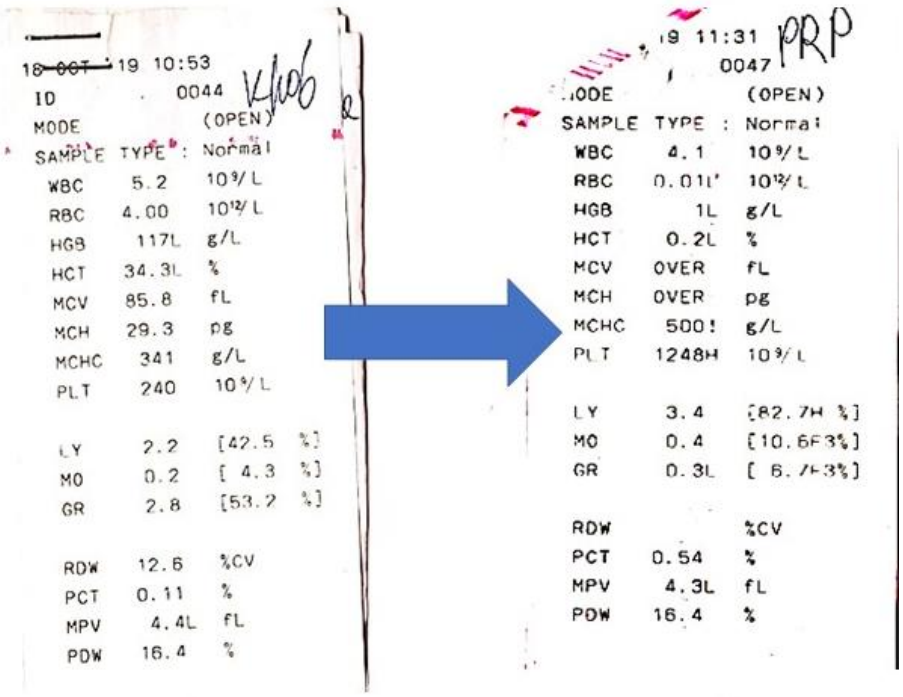
Тобто ми можемо регулювати рівень тромбоцитів у аутологічному тромбоконцентраті, для досягнення того чи іншого клінічного ефекту. Так, збіднена тромбоцитами плазма має протизапальні властивості, тому ми рекомендуємо використовувати її для парасуглобового введення, зокрема комбінованого з іншими варіантами тромбоконцентратів. «Класичний» варіант рекомендуємо застосовувати для внутрішньосуглобового введення, зокрема в ранніх стадіях остеоартрозу. Високу концентрацію клітин рекомендуємо для внутрішньокісткового введення. Зокрема концентрований варіант – для

субхондрального введення при остеоартрозі, а гіперконцентрований – при асептичних некрозах різних локалізацій.

Збагачена тромбоцитами плазма в свою чергу може бути класифікована:

За концентрацією лейкоцитів:

- *лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма* (концентрація лейкоцитів у збагаченій тромбоцитами плазмі ≥2 тис. на 1 мкл), на рис. 5.22 (а, б) представлено результат загального аналізу цільної крові та лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми пацієнта Г. (№ історії хвороби 562651).



а) б)

Рисунок 5.22 – Результат загального аналізу цільної крові (а) та лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми (б) пацієнта Г. (№ історії хвороби 562651)

Так, в аналізі біотехнологічного продукту (рис. 5.22 б) бачимо, що концентрація лейкоцитів лише незначно знизилася порівняно з загальним аналізом цільної крові і склала 4,1×10⁹/л порівняно з 5,2×10⁹/л у цільній крові

(рис. 5.23 а), рівень тромбоцитів в цільному аналізі крові складав 240×10⁹/л, в аналізі біотехнологічного продукту рівень тромбоцитів збільшено майже в 6 разів, до 1248×10⁹/л, тобто понад 1 млн/мкл.

- *Малолейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма* (концентрація лейкоцитів у збагаченій тромбоцитами плазмі складає менше 2 тис на 1 мкл); на рис. 5.23 (а,б) представлено результат загального аналізу цільної крові та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми пацієнта К. (№ історії хвороби 578501).

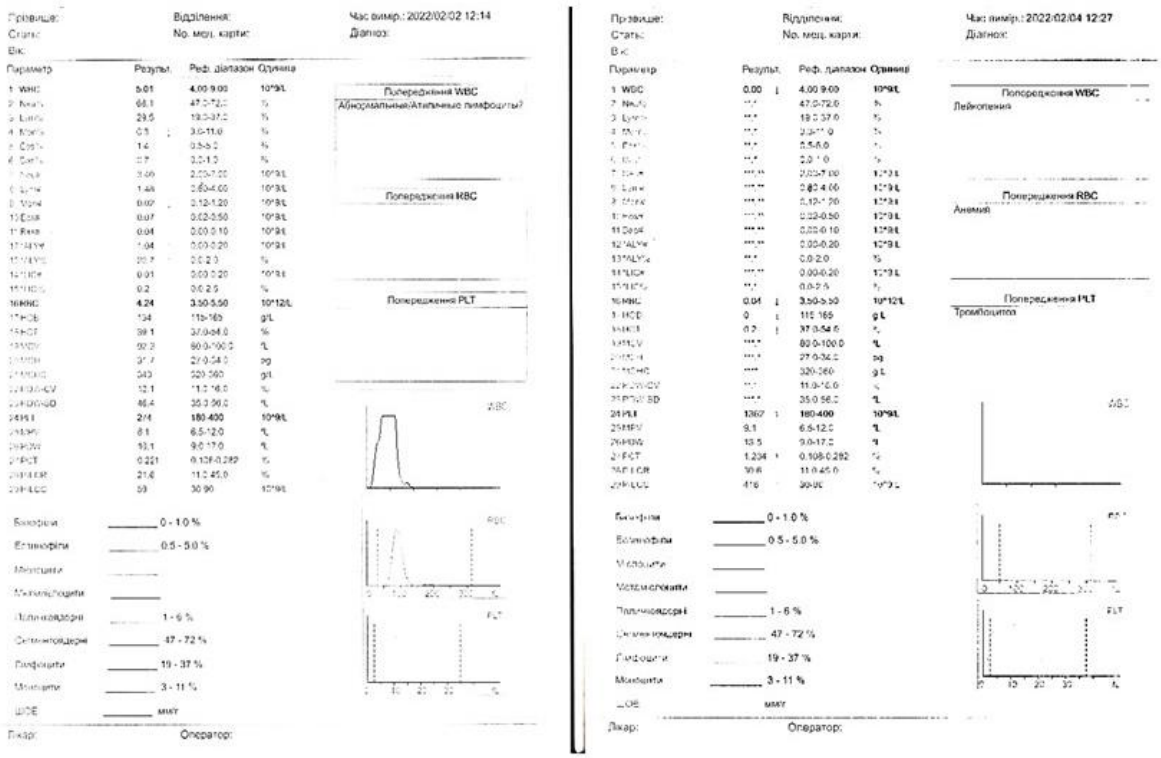


Рисунок 5.23 - Результат загального аналізу цільної крові (а) та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми (б) пацієнта К. (№ історії хвороби 578501)

Так, в аналізі біотехнологічного продукту (рис. 5.23 б) бачимо, що концентрацію лейкоцитів вдалося знизити до 0 порівняно з 5,01×10⁹/л у цільній

крові (рис. 5.23 а), рівень тромбоцитів в цільному аналізі крові складав 274×10^9/л, в аналізі біотехнологічного продукту рівень тромбоцитів збільшено понад, ніж у 6 разів, до 1362×10^9/л, тобто понад 1 млн/мкл.

Відповідно, можливе виготовлення різних варіантів кріолізату:

- кріолізат тромбоцитів на основі лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми;
- кріолізат тромбоцитів на основі малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми.

Малолейкоцитарні варіанти рекомендуємо застосовувати на ранніх стадіях захворювання (зокрема при остеоартрозі), з метою уникнення можливого хондротоксичного впливу лейкоцитів, а лейкоцитарні – в пізніх стадіях, оскільки для цих пацієнтів вплив лейкоцитів, зокрема враховуючи роль макрофагів, є важливим для усунення запального компоненту в суглобі та парасуглобових тканинах.

За результатами аналізів виготовлених біотехнологічних продуктів встановили наступні критерії якості клітинних форм аутологічних тромбоконцентратів [234]:

Тромбоцитарний індекс аутологічного тромбоконцентрату (ТІАТ) – співвідношення концентрації тромбоцитів у біотехнологічному продукті до початкової концентрації тромбоцитів у первинному аналізі крові пацієнта та виділили наступні критерії оцінки даного показника:

- ТІАТ < 4 – низький показник індексу,
- ТІАТ 4–6 – середній показник індексу,
- ТІАТ > 6 – високий показник індексу.

Цей показник є критерієм якості продукту, оскільки характеризує рівень тромбоцитів в біотехнологічному продукті порівняно з їх рівнем в нативній крові пацієнта та дає змогу визначати показання до його застосування (парасуглобове, внутрішньосуглобове або внутрішньокісткове введення). Ми можемо коригувати його залежно від потреби щодо застосування біотехнологічного продукту (локалізація та обсяг ураження тканин). Чим

більшим є обсяг ураження тканин, тим більша має бути концентрація тромбоцитів порівняно з концентрацією в цільній крові. Щодо застосування залежно від локалізації ураження, при низькому показнику індексу, продукт буде показаний для парасуглобового введення, при середньому показнику- для внутрішньосуглобового введення, при високому – для внутрішньокісткового.

Лейкоцитарний індекс аутологічного тромбоконцентрату (ЛІАТ) – співвідношення початкової концентрації лейкоцитів у первинному аналізі крові пацієнта до концентрації лейкоцитів у біотехнологічному продукті.

- ЛІАТ < 2 – низький показник індексу,
- ЛІАТ 2–3 – середній показник індексу,
- ЛІАТ >3 – високий показник індексу.

Даний показник є критерієм безпеки продукту, оскільки дає змогу спрогнозувати ймовірність побічних реакцій при його введенні, викликаних наявністю лейкоцитів. Так, чим нижчий показник індексу, тим більша ймовірність побічних реакцій при введенні продукту за рахунок вмісту у ньому лейкоцитів.

Тромбоцитарно-лейкоцитарний індекс аутологічного тромбоконцентрату (ІТЛСАТ) – співвідношення концентрації тромбоцитів та лейкоцитів у біотехнологічному продукті.

- ІТЛСАТ < 500 – низький показник індексу,
- ІТЛСАТ 500–1000 – середній показник індексу,
- ІТЛСАТ > 1500 – високий показник індексу.

Цей критерій дає можливість визначити показання до застосування продукту залежно від стадії захворювання. Так, біотехнологічний продукт з високим та середнім показником індексу доцільно застосовувати у пацієнтів з початковими стадіями остеоартрозу, продукт з низьким показником індексу- в пізніх стадіях остеоартрозу в зв’язку з необхідністю впливу лейкоцитарного компоненту, а саме впливу макрофагів на уражені тканини.

Визначили зазначені індекси в отриманих клітинних біотехнологічних

продуктах, а саме в лейкоцитарній, малолейкоцитарній та гіперконцентрованій збагаченій тромбоцитами плазмі [234] (табл. 5.1–5.3).

Показники визначення тромбоцитарного індексу аутологічного тромбоконцентрату у виготовлених біотехнологічних продуктах представлено в табл. 5.1.

Таблиця 5.1 – Визначення тромбоцитарного індексу аутологічного тромбоконцентрату у виготовлених біотехнологічних продуктах

Варіант біотехнологічного продукту	Кількість	ТІАТ <4	ТІАТ 4-6	ТІАТ >6
Лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма	98	10	46	42
Малолейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма	143	34	91	18
Гіперконцентрована збагачена тромбоцитами плазма	112	4	21	87

Показники визначення лейкоцитарного індексу аутологічного тромбоконцентрату у виготовлених біотехнологічних продуктах представлено в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2 – Визначення лейкоцитарного індексу аутологічного тромбоконцентрату у виготовлених біотехнологічних продуктах

Варіант біотехнологічного продукту	Кількість	ЛІАТ <2	ЛІАТ 2-3	ЛІАТ >3
Лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма	98	64	34	0
Малолейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма	143	0	64	79
Гіперконцентрована збагачена тромбоцитами плазма	112	48	47	17

Показники визначення лейкоцитарно-тромбоцитарного індексу аутологічного тромбоконцентрату у виготовлених біотехнологічних продуктах представлено в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3 – Визначення лейкоцитарно-тромбоцитарного індексу аутологічного тромбоконцентрату у виготовлених біотехнологічних продуктах

Варіант біотехнологічного продукту	Кількість	ІЛТСАТ <500	ІЛТСАТ 500-1000	ІЛТСАТ >1500
Лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма	98	32	76	0
Малолейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма	143	0	114	29
Гіперконцентрована збагачена тромбоцитами плазма	112	0	15	97

Таким чином, для лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми характерний середній або високий тромбоцитарний індекс та низький або середній лейкоцитарний та лейкоцитарно-тромбоцитарний індекс, для малолейкоцитарної - середній тромбоцитарний індекс, середній або високий лейкоцитарний індекс та середній індекс лейкоцитарно-тромбоцитарного співвідношення, для гіперконцентрованої збагаченої тромбоцитами плазми – високий тромбоцитарний та лейкоцитарно-тромбоцитарний індекс та низький або середній лейкоцитарний індекс. Ці показники переважно залежать від початкової концентрації лейкоцитів та тромбоцитів у нативній крові пацієнта, але оператор, при потребі, може скоригувати їх при виготовленні біотехнологічного продукту.

Візуальні критерії якості аутологічних тромбоконцентратів.

Фактично, візуальні характеристики аутологічних тромбоконцентратів відображають їх морфологічний склад, а також різні варіанти порушення технології процесу їх виготовлення, починаючи від некоректної підготовки пацієнта до процедури забору крові і закінчуючи помилками у технології виділення клітин.

За візуальними характеристиками, розділили усі аутологічні тромбоконцентрати на наступні фенотипи [234]:

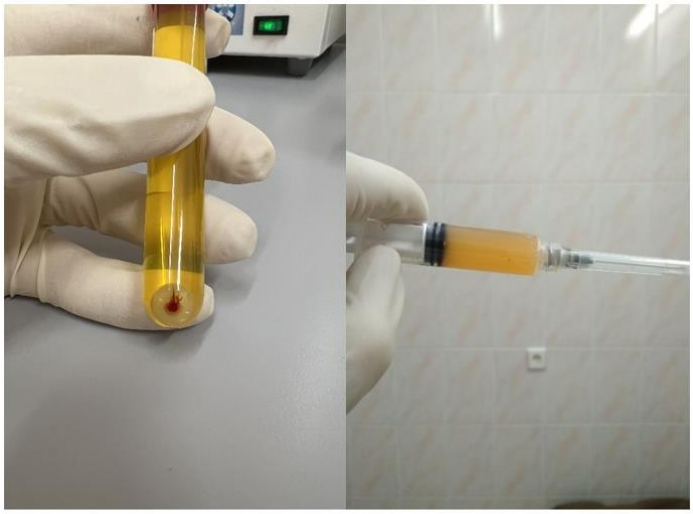
- «ідеальний» фенотип,
- «класичний» фенотип,
- «еритроцитарний» фенотип
- «малоклітинний» фенотип,
- «аліментарний» фенотип.

На рис. 5.24 (а, б) представлено варіант ідеального фенотипу збагаченої тромбоцитами плазми. Його можна охарактеризувати таким чином: плазма в надосаді прозора, клітинне кільце добре виражене, еритроцитарний осад ледь помітний (рис. 5.24 а). Кінцевий продукт бурштинового забарвлення та непрозорий порівняно з плазмою (рис. 5.24 б).

а) б)

Рисунок 5.24 – Фото «ідеального» фенотипу збагаченої тромбоцитами плазми. а – візуальні характеристики клітинного осаду, б – візуальні характеристики кінцевого продукту (ліворуч) у порівнянні з плазмою (праворуч)

На рис. 5.25 (а, б) представлено «класичний» фенотип збагаченої тромбоцитами плазми. Від «ідеального» він відрізняється більш вираженим еритроцитарним осадом після другого центрифугування.



а) б)

Рисунок 5.25 – «Класичний» фенотип збагаченої тромбоцитами плазми: а – після другого центрифугування, б – готовий біотехнологічний продукт (пояснення в тексті)

На рис. 5.26–5.28 представлено варіанти «дефектних» фенотипів аутологічних тромбоконцентратів. В більшості випадків вони пов'язані з порушенням правил підготовки пацієнта до забору крові та порушенням технології самого забору.

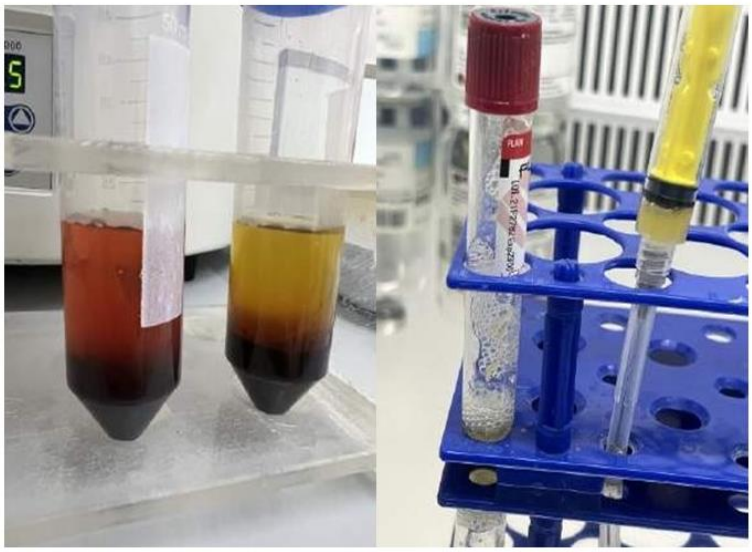
«Еритроцитарний» фенотип характерний для пацієнтів, які не дотримувалися режиму вживання рідини перед забором крові для виготовлення біотехнологічного продукту. Рекомендованим є обсяг вживання рідини 2–3 літри на добу протягом 2 діб до планованого забору біологічного матеріалу (рис. 5.26).

Рисунок 5.26 – Фото «еритроцитарного» фенотипу аутологічного тромбоконцентрату. Внаслідок гіпогідратації після другого центрифугування візуалізується еритроцитарний осад значних розмірів

«Малоклітинний» варіант фенотипу характерний для пацієнтів, які порушували режим підготовки перед забором крові (недостатнє вживання їжі та рідини, недостатнє вживання білка, веганство, куріння електронних цигарок) (рис. 5.27).

Рисунок 5.27 – «Малоклітинний» фенотип аутологічних тромбоконцентратів (відмічається ледь виражене клітинне кільце)

«Аліментарний» фенотип характерний для пацієнтів, які під час підготовки до процедури забору крові порушують дієту (вживання жирної, копченої, солоної та смаженої їжі, вживання солодких газованих напоїв). Цей варіант фенотипу характеризується відсутністю чітких шарів під час центрифугування, передчасною активацією тромбоцитів (рис. 5.28).



а) б)

Рисунок 5.28 – «Аліментарний» фенотип аутологічного тромбоконцентрату. Характерна нечіткість шарів на етапах центрифугування (а), передчасна активація тромбоцитів у готовому продукті (б)

Мікробіологічна безпека продуктів з аутологічних тромбоконцентратів. Для мікробіологічного дослідження використовували проби з кріолізатом тромбоцитів, оскільки даний продукт не використовується безпосередньо після виготовлення, а перебуває на карантинному зберіганні у кріосховищі до отримання результатів тестування. Проводили тестування зразків відразу після виготовлення, а також зразків через 12 та 24 місяці після виділення. За результатами мікробіологічного дослідження мікрофлора не була виявлена в жодному зразку, що свідчить про належне дотримання асептичних умов на усіх етапах виготовлення аутологічних тромбоконцентратів. У випадку

виявлення мікробної контамінації продукт має підлягати негайній утилізації з подальшою перевіркою належної якості реагентів, витратних матеріалів та дотримання стандартних операційних процедур персоналом.

5.3.2 Критерії якості та безпеки біотехнологічних продуктів аутологічного аспірату кісткового мозку

Морфологічні критерії якості та безпеки аспірату кісткового мозку та біотехнологічних продуктів, виготовлених з нього. За результатами аналізу мієлограм пацієнтів, яким виконувався забір аспірату кісткового мозку для виготовлення біотехнологічного продукту, усі варіанти аспірованої рідини розділили на 2 типи: аспірат кісткового мозку та аспірат без ознак наявності кісткового мозку. Результати визначення типу аспірату кісткового мозку в отриманих зразках представлено в табл. 5.4.

Таблиця 5.4 – Результати визначення типу аспірату кісткового мозку у зразках

Тип аспірату	Кількість зразків
Поліморфний	16
Помірноклітинний	26
Гіпоклітинний	29

Під час оцінки аспірованої рідини враховували 2 основні критерії – наявність мегакаріоцитів в мієлограмі, як клітинного маркера кісткового мозку, та показник лейко-еритроцитарного індексу аспірату. За відсутності мегакаріоцитів в мієлограмі та лейко-еритроцитарному індексі більше 20:1, аспірована рідина не є придатною для подальшого виготовлення біотехнологічного продукту. В таблиці 5.5 представлено приклад даного типу мієлограми пацієнта Г. (№ історії хвороби 593129).

Таблиця 5.5 – Приклад мієлограми пацієнта Г. (№ історії хвороби 593129), аспірат якого непридатний для виготовлення біотехнологічного продукту

Міністерство охорони здоров'я України		МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ **ФОРМА № 227/о** Затверджена наказом МОЗ України 04.01.2001 № 1
Найменування закладу Лабораторія		

АНАЛІЗ №_____
пунктату кісткового мозку (мієлограма)
"18" липня 2023 року
(дата взяття біоматеріалу)

Клітинні елементи		**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Ретикулярні клітини			0,1-1,6
Бласти, що не піддаються морфологічній диференціації			0,1-1,1
Мієлобласти		0	0,2-1,7
Нейтрофільні гранулоцити	Промієлоцити	0,2	1,0-4,1
	Мієлоцити	1,4	7,0-12,2
	Метамієлоцити	0,8	8,0-15,0
	Паличкоядерні	4,0	12,8-23,7
	Сегментоядерні	52,0	13,1-24,1
Еозинофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,5-5,8
	Мієлоцити		0,5-5,8
	Метамієлоцити	0,6	0,5-5,8
	Паличкоядерні		0,5-5,8
	Сегментоядерні		0,5-5,8
Базофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,0-0,5
	Мієлоцити		0,0-0,5
	Метамієлоцити	0,2	0,0-0,5
	Паличкоядерні		0,0-0,5
	Сегментоядерні		0,0-0,5
Елементи еритропоезу:			
Еритробласти		0	0,2-1,1
Пронормоцити		0,2	0,1-1,2
Нормоцити базофільні		2,2	1,4-4,6

Клітинні елементи	**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Нормоцити поліхроматофільні	7,2	8,9-16,9
Нормоцити оксифільні	0	0,8-5,6
Промегалобласти		-
Мегалобласти базофільні		-
Мегалобласти поліхроматофільні		-

Мегалобласти оксифільні		-
		Продовження табл. 5.5
Елементи лімфопоезу:		
лімфоцити	22,4	4,3-13,7
плазмоцити	0,2	0,1-1,8
Елементи моноцитопоезу:		
моноцити	8,6	0,7-3,1
Мітози елементів білого ростка		2 : 500
Мітози елементів червоного ростка		3 :500
Індекси кісткового мозку:		
лейко:еритро	9,4:1,0	3,5-4 : 1,0
визрівання нейтрофілів	0,04	0,6-0,8
визрівання еритрокаріоцитів	0,8	0,8-0,9
Висновок Пунктат кісткового мозку гіпоклітинний. Мегакаріоцити в препараті відсутні. Враховуючи наближення клітинного складу кісткового мозку до клітинного складу периферичної крові, відсутність мегакаріоцитів та фрагментів кістковомозкового ретикулуму не можна виключати значної домішки крові до аспірату		

У свою чергу аспірат кісткового мозку, який отримували при заборі, за результатами аналізу мієлограм розділили на 3 типи: тип 1 – поліморфний (з наявністю клітин-попередників усіх типів у межах норми). Для даного варіанту аспірату характерна наявність мегакаріоцитів у мієлограмі, лейко-еритроцитарний індекс не перевищує 4:1.

Приклад мієлограми цього типу аспірату кісткового мозку представлено в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 – Приклад мієлограми поліморфного типу пацієнтки С. (№ історії хвороби 590220)

Міністерство охорони здоров'я України Найменування закладу Лабораторія		МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ **ФОРМА № 227/о** Затверджена наказом МОЗ України 04.01.2001 № 1
АНАЛІЗ №_____ **пунктату кісткового мозку (мієлограма)** "06" липня 2023 р.		
Клітинні елементи	**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Ретикулярні клітини		0,1-1,6
Бласти, що не піддаються морфологічній диференціації		0,1-1,1

Мієлобласти		0	0,2-1,7
Нейтрофільні гранулоцити	Промієлоцити	1,2	1,0-4,1
	Мієлоцити	10,4	7,0-12,2
	Метамієлоцити	6,0	8,0-15,0
	Паличкоядерні	15,2	12,8-23,7
	Сегментоядерні	26,4	13,1-24,1
Еозинофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,5-5,8
	Мієлоцити		0,5-5,8
	Метамієлоцити	0,4	0,5-5,8
	Паличкоядерні		0,5-5,8
	Сегментоядерні		0,5-5,8
Базофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,0-0,5
	Мієлоцити		0,0-0,5
	Метамієлоцити	0,4	0,0-0,5
	Паличкоядерні		0,0-0,5
	Сегментоядерні		0,0-0,5
Елементи еритропоезу:			
Еритробласти		0,4	0,2-1,1
Пронормоцити		0,4	0,1-1,2
Нормоцити базофільні		3,2	1,4-4,6

Клітинні елементи	**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Нормоцити поліхроматофільні	9,6	8,9-16,9
Нормоцити оксифільні	6,4	0,8-5,6
Промегалобласти		-
Мегалобласти базофільні		-
Мегалобласти поліхроматофільні		-
Мегалобласти оксифільні		-
Елементи лімфопоезу:		
лімфоцити	15,6	4,3-13,7
плазмоцити	0,4	0,1-1,8
Елементи моноцитопоезу:		
моноцити	4,0	0,7-3,1
Мітози елементів білого ростка		2 : 500
Мітози елементів червоного ростка		3 :500
Індекси кісткового мозку:		
лейко:еритро	4,0:1,0	3,5-4 : 1,0
визрівання нейтрофілів	0,4	0,6-0,8
визрівання еритрокаріоцитів	0,8	0,8-0,9

Висновок Пунктат кісткового мозку помірноклітинний, поліморфний. Розміри еритрону збережені (20,0%), з нормальним дозріванням. Гранулоцитарний ряд збережений (59,2%), переважають зріді форми гранулоцитів. Мегакаріоцити поодинокі в препараті, вільно розміщені тромбоцити в достатній кількості

Тип 2 – помірноклітинний (з наявністю усіх типів клітин- попередників, але деякі з них нижче норми). Для даного варіанту аспірату характерна наявність мегакаріоцитів у мієлограмі, лейко-еритроцитарний індекс складає 5:1–10:1.

Приклад мієлограми цього типу аспірату кісткового мозку представлено в таблиці 5.7.

Таблиця 5.7 – Приклад мієлограми помірноклітинного типу пацієнтки К. (№ історії хвороби 426376)

Міністерство охорони здоров'я України		МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ **ФОРМА № 227/о** Затверджена наказом МОЗ України 04.01.2001 № 1
Найменування закладу Лабораторія		

АНАЛІЗ №_____
пунктату кісткового мозку (мієлограма)
"18" вересня 2023р.
(дата взяття біоматеріалу)

Клітинні елементи		**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Ретикулярні клітини			0,1-1,6
Бласти, що не піддаються морфологічній диференціації			0,1-1,1
Мієлобласти		0,2	0,2-1,7
Нейтрофільні гранулоцити	Промієлоцити	0,6	1,0-4,1
	Мієлоцити	12,8	7,0-12,2
	Метамієлоцити	16,0	8,0-15,0
	Паличкоядерні	8,8	12,8-23,7
	Сегментоядерні	27,2	13,1-24,1
Еозинофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,5-5,8
	Мієлоцити		0,5-5,8
	Метамієлоцити	0,6	0,5-5,8
	Паличкоядерні		0,5-5,8
	Сегментоядерні		0,5-5,8
Базофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,0-0,5
	Мієлоцити		0,0-0,5
	Метамієлоцити	0,2	0,0-0,5
	Паличкоядерні		0,0-0,5
	Сегментоядерні		0,0-0,5

Елементи еритропоезу:		
Еритробласти	0,2	0,2-1,1
Пронормоцити	0,6	0,1-1,2
Нормоцити базофільні	5,6	1,4-4,6

Клітинні елементи	**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Нормоцити поліхроматофільні	9,6	8,9-16,9
Нормоцити оксифільні	0	0,8-5,6
Промегалобласти		-
Мегалобласти базофільні		-
Мегалобласти поліхроматофільні		-
Мегалобласти оксифільні		-
Елементи лімфопоезу:		
лімфоцити	13,6	4,3-13,7
плазмоцити	0,2	0,1-1,8
Елементи моноцитопоезу:		
моноцити	3,8	0,7-3,1
Мітози елементів білого ростка		2 : 500
Мітози елементів червоного ростка		3 :500
Індекси кісткового мозку:		
лейко:еритро	5,3:1,0	3,5-4 : 1,0
визрівання нейтрофілів	0,8	0,6-0,8
визрівання еритрокаріоцитів	0,6	0,8-0,9

Висновок Пунктат кісткового мозку помірноклітинний. Розміри еритрона збережені, ближче до нижньої межі норми, з затримкою дозрівання на молодих формах. Гранулоцитарний ряд збережений, з нормальним дозріванням. Мегакаріоцити поодинокі в препараті.

Тип 3 – гіпоклітинний (з наявністю більшості типів клітин- попередників, деякі з них нижче норми). Для даного варіанту аспірату характерна наявність мегакаріоцитів у мієлограмі, лейко-еритроцитарний індекс складає 10:1 – 20:1.

Приклад мієлограми цього типу аспірату кісткового мозку представлено в таблиці 5.8.

Таблиця 5.8 – Приклад мієлограми гіпоклітинного типу пацієнтки С. (№ історії хвороби 591807)

Міністерство охорони здоров'я України		МЕДИЧНА ДОКУМЕНТАЦІЯ **ФОРМА № 227/о** Затверджена наказом МОЗ України 04.01.2001 № 1
Найменування закладу Лабораторія		

АНАЛІЗ №_____
пунктату кісткового мозку (мієлограма)
"22" вересня 2023р.
(дата взяття біоматеріалу)

Клітинні елементи		**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Ретикулярні клітини			0,1-1,6
Бласти, що не піддаються морфологічній диференціації			0,1-1,1
Мієлобласти		0	0,2-1,7
Нейтрофільні гранулоцити	Промієлоцити	0	1,0-4,1
	Мієлоцити	2,8	7,0-12,2
	Метамієлоцити	1,6	8,0-15,0
	Паличкоядерні	3,6	12,8-23,7
	Сегментоядерні	42,0	13,1-24,1
Еозинофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,5-5,8
	Мієлоцити		0,5-5,8
	Метамієлоцити	0,8	0,5-5,8
	Паличкоядерні		0,5-5,8
	Сегментоядерні		0,5-5,8
Базофільні гранулоцити	Промієлоцити		0,0-0,5
	Мієлоцити		0,0-0,5
	Метамієлоцити	0,4	0,0-0,5
	Паличкоядерні		0,0-0,5
	Сегментоядерні		0,0-0,5
Елементи еритропоезу:			
Еритробласти		0	0,2-1,1
Пронормоцити		0	0,1-1,2
Нормоцити базофільні		2,4	1,4-4,6

Клітинні елементи	**Результат**	**Норма (в % за А. І. Воробйовим)**
Нормоцити поліхроматофільні	6,4	8,9-16,9
Нормоцити оксифільні	1,2	0,8-5,6
Промегалобласти		-
Мегалобласти базофільні		-

Мегалобласти поліхроматофільні		-
Мегалобласти оксифільні		-
Елементи лімфопоезу:		
лімфоцити	32,0	4,3-13,7
плазмоцити	0	0,1-1,8
Елементи моноцитопоезу:		
моноцити	6,4	0,7-3,1
Мітози елементів білого ростка		2 : 500
Мітози елементів червоного ростка		3 :500
Індекси кісткового мозку:		
лейко:еритро	9,0:1,0	3,5-4 : 1,0
визрівання нейтрофілів	0,1	0,6-0,8
визрівання еритрокаріоцитів	0,8	0,8-0,9

Висновок Клітинність пунктату кісткового мозку знижена. Представлені клітини всіх паростків гемопоезу на різних етапах дозрівання.

Функціональні критерії якості аспірату кісткового мозку та біотехнологічних продуктів, виготовлених з нього. Наразі КУОф-аналіз вважається одним із «золотих стандартів» для визначення частоти клоногенних ММСК-КМ. За результатами аналізу культивування ядровмісних клітин аспірату кісткового мозку, підраховували кількість колоній у трьох пробах та визначали середній показник колоній для кожного пацієнта. Розраховували коефіцієнт ефективності посіву (відсоток ММСК серед усіх ядровмісних клітин) за наступною формулою: КЕП (коефіцієнт ефективності посіву) = середня кількість колоній у трьох пробах кожного пацієнта×100%/5,7 млн (кількість ядровмісних клітин на 1 велику чашку Петрі) [235]. Результати визначення ефективності посіву представлено у таблиці 5.9.

Таблиця 5.9 – Визначення ефективності посіву ядровмісних клітин аспірату кісткового мозку

№ пацієнта	Кількість ядровмісних клітин в 5 мл зразку аспірату КМ (млн)	Кількість колоній (КУО)ядровмісних клітин (ЯВК) у трьох зразках	Середня кількість колоній ЯВК	КЕП (%)
1.	145	246	199,00	0,0035
		163		
		188		
2.	230	203	195,00	0,0034
		157		
		225		
3.	79,5	345	336,70	0,0059
		298		
		367		
4.	247	203	205,33	0,0036
		211		
		202		
5.	83	139	127,67	0,0022
		126		
		118		
6.	242	263	209,67	0,0037
		235		
		131		
7.	150	104	94,66	0.0017
		117		
		63		

Продовження таб. 5.9

8.	281	289	264,00	0,0046
		271		
		232		
9.	77	55	78,33	0.0013
		77		
		103		
10.	191	96	106,33	0,0019
		122		
		101		
11.	316	88	85,00	0,0015
		87		
		80		
12.	86	38	24,33	0,0004
		24		
		11		
13.	106	99	121,67	0,002
		117		
		149		
14.	167	129	165,67	0,003
		158		
		210		

Показник КЕП <0,001% оцінювали як незадовільний, показник КЕП в межах 0,001 – 0,003% оцінювали як задовільний, показник КЕП >0,003% оцінювали, як хороший. Таким чином, аспірат кісткового мозку з КЕП <0,001% оцінювали як такий, що є непридатним для застосування біотехнологічного продукту. Оптимальним для використання у якості біотехнологічного продукту є аспірат кісткового мозку з КЕП >0,003% (тобто

більше 3 клональних колоній ММСК на 1×10^5 ЯСК аспірату КМ).

За результатами визначення відсотку життєздатних клітин у нативному аспіраті кісткового мозку (група 1), концентрованому аспіраті кісткового мозку (група 2) та мононуклеарній фракції аспірату кісткового мозку (група 3). Отримали наступні результати (рис. 5.29):

Рисунок 5.29 – Гістограма показника життєздатних клітин у різних варіантах біотехнологічних продуктів кісткового мозку

Отже, у нативному аспіраті кісткового мозку відсоток життєздатних клітин (середнє значення) склав 43%, у концентрованому аспіраті кісткового мозку - 98%, в мононуклеарній фракції аспірату кісткового мозку – 99%.

Визначили відсоток ядровмісних клітин у кожному варіанті біотехнологічного продукту. У нативному аспіраті він наближався до 1%, концентрованому аспіраті – 11%, мононуклеарній фракції – 22% (рис. 5.30).

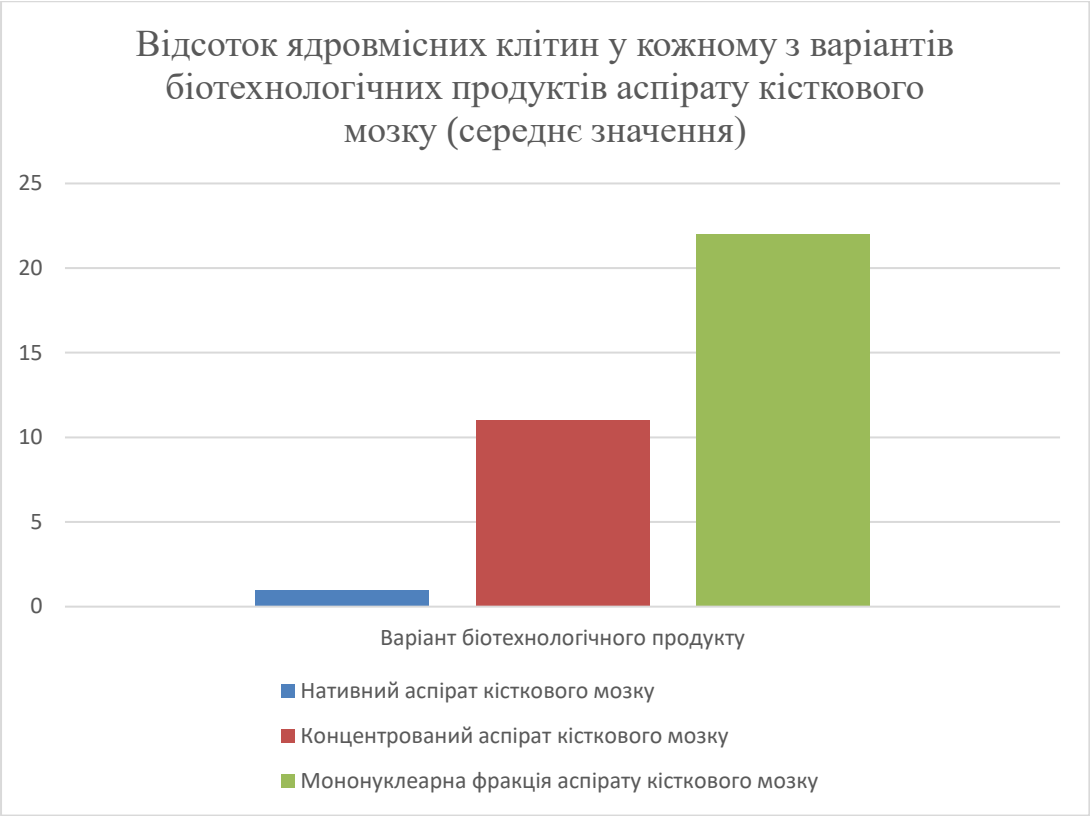


Рисунок 5.30 – Гістограма показника ядровмісних клітин у різних варіантах біотехнологічних продуктів кісткового мозку

Станом насьогодні аутологічний аспірат кісткового мозку все ширше використовується для лікування пацієнтів ортопедо-травматологічного профілю, зокрема при остеоартрозі та асептичному некрозі [235-236]. В літературі лікування аутологічним концентрованим аспіратом кісткового мозку часто описується як «терапія стовбуровими клітинами» [237-238]. Однак слід зазначити, що даний продукт містить різні типи клітин, більшість з яких належать до гемопоетичної лінії, а не мезенхімальної. Проведене нами дослідження також підтверджує цей факт. Нами, як і іншими дослідниками, було виявлено лише незначний відсоток мезенхімальних стовбурових клітин в аспіраті кісткового мозку [239-240]. Цей факт засвідчує про доцільність більш точного підходу до термінології біотехнологічних продуктів. Говорити про лікування мезенхімальними стовбуровими клітинами можна говорити лише у випадку, якщо вони були виділені з аспірату кісткового мозку та культивовані

in vitro.

У випадку застосування аспірату кісткового мозку та його похідних (концентрований аспірат кісткового мозку, мононуклеарна фракція аспірату кісткового мозку) доцільніше вживати термін «регенеративна терапія», оскільки найкращим поясненням терапевтичного впливу біотехнологічних продуктів з аспірату кісткового мозку є паракринний ефект отриманого клітинного концентрату за рахунок факторів росту, які він містить [241].

5.3.3 Класифікація біотехнологічних продуктів та їх критеріїв якості і безпеки для регенеративного інтервенційного лікування остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів

Розроблено класифікацію біотехнологічних продуктів для застосування при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів [242].

- 1 лінія – засоби, які при введенні в пошкоджену ділянку стимулюють виділення організмом власних факторів росту (розчини декстрози, фенолу, гліцерину, глюкози, озону тощо)
- 2 лінія – аутологічні тромбоконцентрати
  - ✓ а) з малою (менше 1 млн клітин на 1 мкл) клітинністю (збіднена тромбоцитами плазма, концентрована плазма)
  - ✓ б) аутологічні тромбоконцентрати зі значною (більше 1 млн клітин на 1 мкл) клітинністю (малолейкоцитарна та лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма, гіперконцентрована збагачена тромбоцитами плазма)
  - ✓ в) кріолізат тромбоцитів
- 3 лінія – аутологічні концентрати жирової клітковини та кісткового мозку
  - ✓ а) концентрати жиру та кісткового мозку, отримані шляхом механічної обробки (мікрофрагментований жир, концентрат аспірату кісткового мозку)

- ✓ б) концентрати жиру та кісткового мозку, отримані шляхом механічної та біотехнологічної обробки (стромально-васкулярна фракція жирової клітковини, мононуклеарна фракція аспірату кісткового мозку) та їх похідні
- 4 лінія–біотехнологічні продукти, отримані шляхом культивування клітин (мезенхімальні стовбурові клітини, фібробласти, хондроцити тощо) або іншої високотехнологічної обробки (екзосоми)
  - ✓ а) аутологічні
  - ✓ б) алогенні
- 5 лінія – фармпрепарати на основі цитокінів, стовбурових клітин, генноінженерні препарати.

У нашому дослідженні ми застосовували виключно біотехнологічні продукти другої та третьої лінії.

Розроблено класифікацію критеріїв якості та безпеки аутологічних біотехнологічних продуктів, виготовлених з крові, кісткового мозку та жирової тканини. Згідно зазначеної класифікації усі критерії якості та безпеки нами було розділено на лабораторні та клінічні.

До лабораторних критеріїв якості та безпеки ми віднесли наступні: морфологічні, морфогенетичні, епігенетичні, проліферативні (культуральні), мікробіологічні та візуалізаційні.

До клінічних критеріїв якості та безпеки ми віднесли наступні: якість і безпека застосування біотехнологічних продуктів (побічна дія та ускладнення) та якість і безпека введення біотехнологічних продуктів (ультразвукова та рентгенологічна навігація при введенні біотехнологічних продуктів).

Схематичне зображення класифікації критеріїв якості і безпеки аутологічних біотехнологічних продуктів, виготовлених з крові, кісткового мозку та жирової тканини представлено на рис. 5.31.

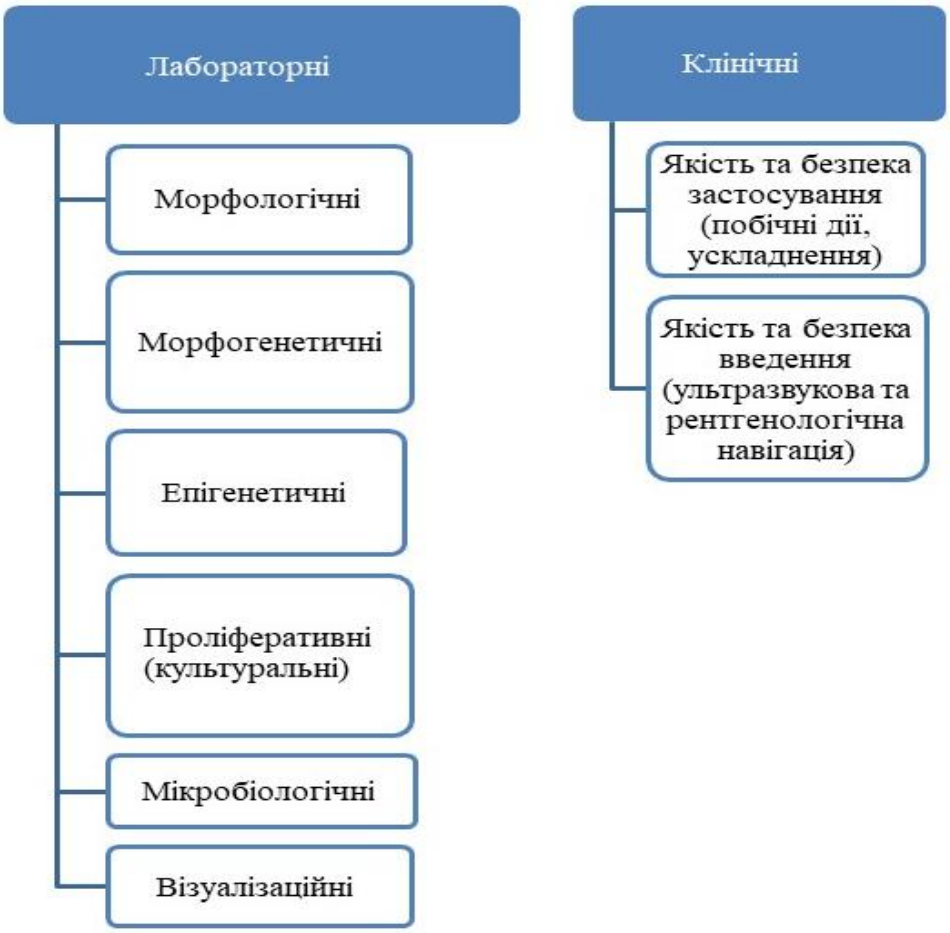


Рисунок 5.31 – Схема класифікації критеріїв якості і безпеки аутологічних біотехнологічних продуктів, виготовлених з крові, кісткового мозку та жирової тканини

5.4 Нові способи отримання біотехнологічних продуктів для застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів

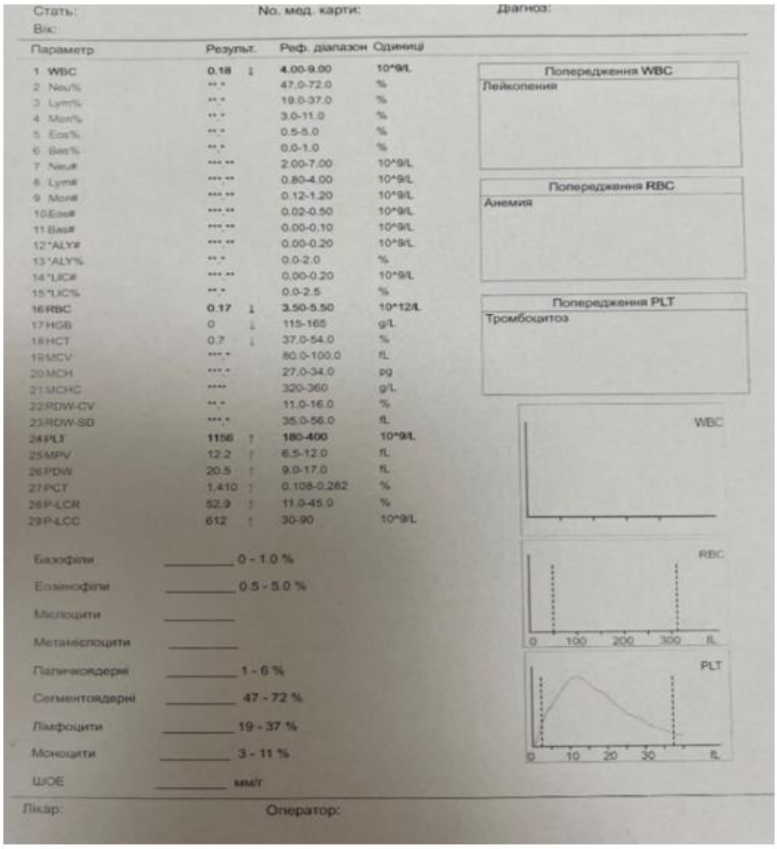
5.4.1 Спосіб отримання дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини

Розроблено спосіб отримання дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини [243], який включає забір цільної крові пацієнта із застосуванням антикоагулянту (цитрат декстрози) у співвідношенні 9:1, її

центрифугування, відділення плазми від еритроцитів та її центрифугування, видалення надлишку збідненої на тромбоцити плазми, ресуспендування отриманого осаду з тромбоцитів, збір його у кріопробірку та заморожування, розморожування перед використанням при температурі 37°С. Осад ресуспендували до показників 1-1,5×10^9 тромбоцитів/мл, переносили в кріопробірки окремими дозами, заморожували і зберігали при температурі мінус 20°С, а перед використанням знову центрифугували для видалення залишків зруйнованих лейкоцитів з концентрату тромбоцитів. Ресуспендували осад тромбоцитів із залишками лейкоцитів до показників 1-1,5×10^9 тромбоцитів/мл, що забезпечує можливість рівномірного розподілу отриманого концентрату на окремі дози та дозволяє використовувати необхідну кількість концентрату без розморожування інших доз. Заморожування та зберігання концентрату при температурі мінус 20°С забезпечує можливість використання для цього морозильної камери звичайного холодильника, що значно спрощує виготовлення концентрату без дороговартісного спеціального обладнання (рідкий азот, клітинні фільтри), зменшуючи затрати на його виготовлення. Видалення залишків зруйнованих лейкоцитів з концентрату тромбоцитів убезпечує імунну відповідь організму та виникнення запального процесу після введення препарату.

Спосіб виконували наступним чином- брали цільну кров пацієнта з антикоагулянтом у співвідношенні 9:1 та двічі центрифугували. Після першого центрифугування плазму відділяли від еритроцитів, знову центрифугували для отримання осаду з тромбоцитів та деякої частки лейкоцитів. Надлишок збідненої на тромбоцити плазми видаляли, а осад, що залишився, ресуспендували в необхідній кількості плазми до показників 1-1,5×10^9 тромбоцитів/мл. Отриманий концентрат розподіляли на дози та переносили в кріопробірки, заморожували при температурі мінус 20°. Перед застосуванням концентрат розморожували при температурі 37°С та знову центрифугували для видалення залишків зруйнованих лейкоцитів. На рис. 5.32–5.34 представлено

результати аналізу клітинного складу дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів на етапах керованої кріодеструкції. На рис. 5.32 представлено аналіз клітинного складу дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів на етапі збагаченої тромбоцитами плазми.



Стать: No. мед. карти: Діагноз:
Вік:

Параметр	Результ.		Реф. діапазон	Одиниці
1 WBC	0.18	↓	4.00-9.00	10^9/L
2 Neu%	**.*		47.0-72.0	%
3 Lym%	**.*		19.0-37.0	%
4 Mon%	**.*		3.0-11.0	%
5 Eos%	**.*		0.5-5.0	%
6 Bas%	**.*		0.0-1.0	%
7 Neu#	***.**		2.00-7.00	10^9/L
8 Lym#	***.**		0.80-4.00	10^9/L
9 Mon#	***.**		0.12-1.20	10^9/L
10 Eos#	***.**		0.02-0.50	10^9/L
11 Bas#	***.**		0.00-0.10	10^9/L
12 *ALY#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
13 *ALY%	**.*		0.0-2.0	%
14 *LIC#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
15 *LIC%	**.*		0.0-2.5	%
16 RBC	0.17	↓	3.50-5.50	10^12/L
17 HGB	0	↓	115-165	g/L
18 HCT	0.7	↓	37.0-54.0	%
19 MCV	***.*		80.0-100.0	fL
20 MCH	***.*		27.0-34.0	pg
21 MCHC	****		320-360	g/L
22 RDW-CV	**.*		11.0-16.0	%
23 RDW-SD	***.*		35.0-56.0	fL
24 PLT	1156	↑	180-400	10^9/L
25 MPV	12.2	↑	6.5-12.0	fL
26 PDW	20.5	↑	9.0-17.0	fL
27 PCT	1.410	↑	0.108-0.282	%
28 P-LCR	52.9	↑	11.0-45.0	%
29 P-LCC	612	↑	30-90	10^9/L

Попередження WBC: Лейкопения
Попередження RBC: Анемия
Попередження PLT: Тромбоцитоз

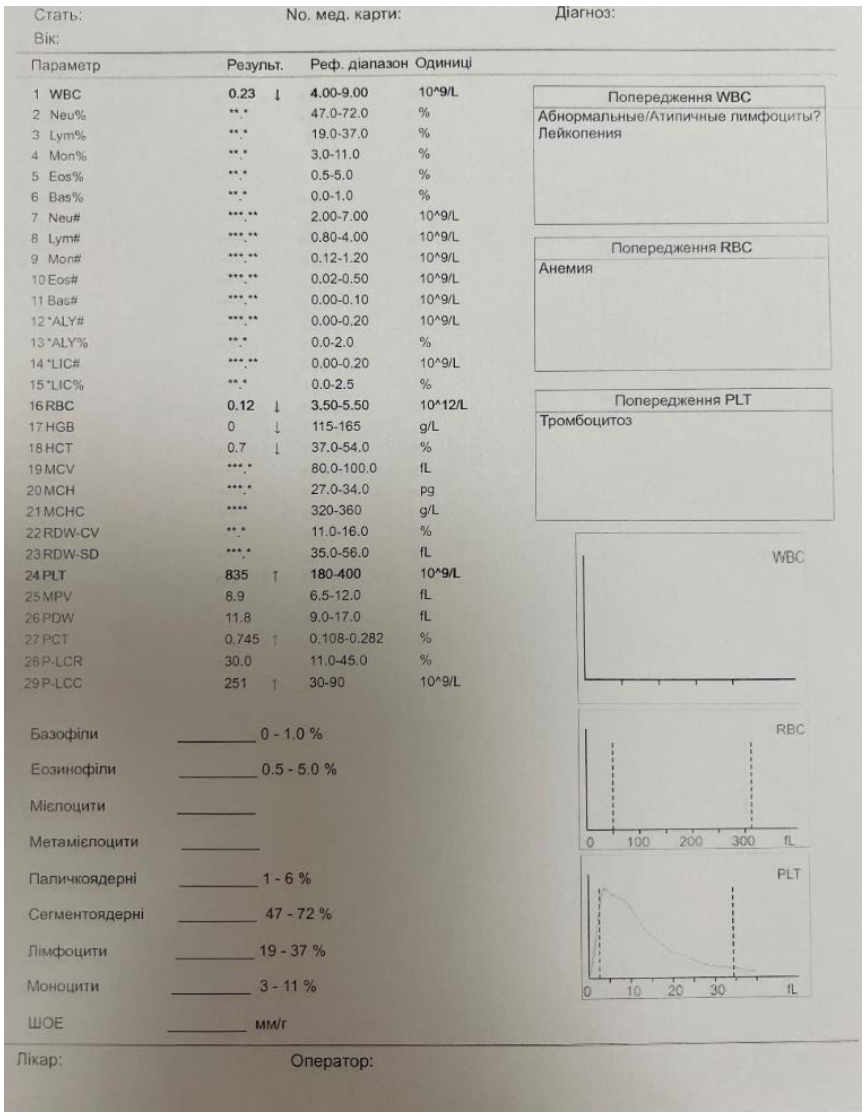
Базофіли	_____	0 - 1.0 %
Еозинофіли	_____	0.5 - 5.0 %
Міелоцити	_____	
Метамієлоцити	_____	
Паличкоядерні	_____	1 - 6 %
Сегментоядерні	_____	47 - 72 %
Лімфоцити	_____	19 - 37 %
Моноцити	_____	3 - 11 %
ШОЕ	_____	мм/г

Лікар: Оператор:

Рисунок 5.32 – Результат аналізу клітинного складу дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів пацієнта О. (№ історії хвороби 578575) на етапі збагаченої тромбоцитами плазми

Як бачимо на представленому аналізі, первинним продуктом є малолейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма класичного типу, згідно розробленої нами класифікації.

На рис. 5.33 представлено аналіз клітинного складу дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів після першого етапу керованої кріодеструкції.



Стать: No. мед. карти: Діагноз:
Вік:

Параметр	Результ.		Реф. діапазон	Одиниці
1 WBC	0.23	↓	4.00-9.00	10^9/L
2 Neu%	**.*		47.0-72.0	%
3 Lym%	**.*		19.0-37.0	%
4 Mon%	**.*		3.0-11.0	%
5 Eos%	**.*		0.5-5.0	%
6 Bas%	**.*		0.0-1.0	%
7 Neu#	***.**		2.00-7.00	10^9/L
8 Lym#	***.**		0.80-4.00	10^9/L
9 Mon#	***.**		0.12-1.20	10^9/L
10 Eos#	***.**		0.02-0.50	10^9/L
11 Bas#	***.**		0.00-0.10	10^9/L
12 *ALY#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
13 *ALY%	**.*		0.0-2.0	%
14 *LIC#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
15 *LIC%	**.*		0.0-2.5	%
16 RBC	0.12	↓	3.50-5.50	10^12/L
17 HGB	0	↓	115-165	g/L
18 HCT	0.7	↓	37.0-54.0	%
19 MCV	***.*		80.0-100.0	fL
20 MCH	***.*		27.0-34.0	pg
21 MCHC	****		320-360	g/L
22 RDW-CV	**.*		11.0-16.0	%
23 RDW-SD	***.*		35.0-56.0	fL
24 PLT	835	↑	180-400	10^9/L
25 MPV	8.9		6.5-12.0	fL
26 PDW	11.8		9.0-17.0	fL
27 PCT	0.745	↑	0.108-0.282	%
28 P-LCR	30.0		11.0-45.0	%
29 P-LCC	251	↑	30-90	10^9/L

Попередження WBC
Абнормальные/Атипичные лимфоциты?
Лейкопения

Попередження RBC
Анемия

Попередження PLT
Тромбоцитоз

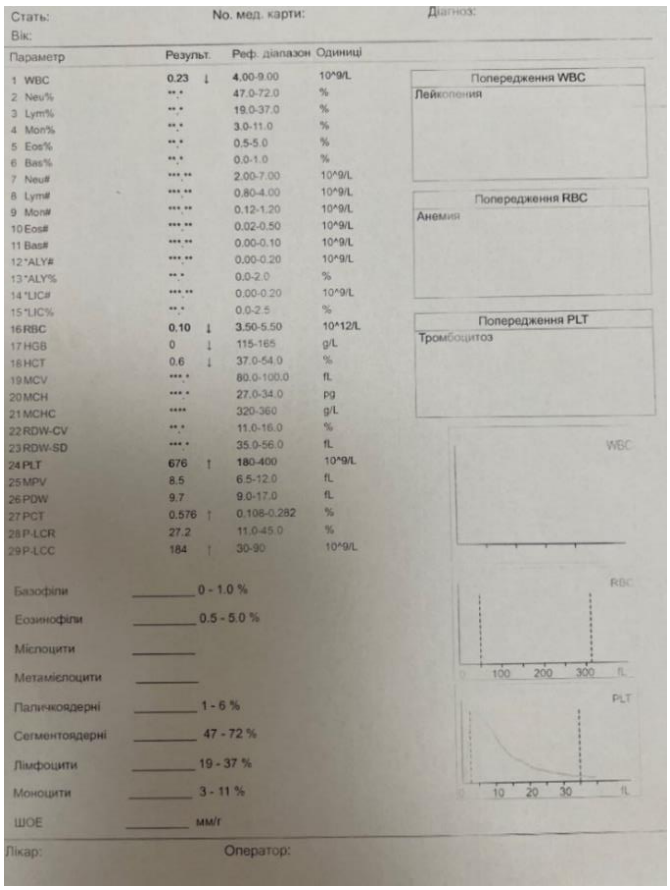
Базофіли _____ 0 - 1.0 %
Еозинофіли _____ 0.5 - 5.0 %
Мієлоцити _____
Метамієлоцити _____
Паличкоядерні _____ 1 - 6 %
Сегментоядерні _____ 47 - 72 %
Лімфоцити _____ 19 - 37 %
Моноцити _____ 3 - 11 %
ШОЕ _____ мм/г

Лікар: Оператор:

Рисунок 5.33 – Результат аналізу клітинного складу дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів пацієнта О. (№ історії хвороби 578575) після першого етапу керованої кроідеструкції

Як бачимо, на представленому аналізі після першого етапу керованої кроідеструкції кількість тромбоцитів у біотехнологічному продукті знизилася з 1156×10^9/л до 835×10^9/л.

На рис. 5.34 представлено аналіз клітинного складу дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів після другого етапу керованої кріодеструкції.



Стать: No. мед. карти: Діагноз:
Вік:

Параметр	Результ.		Реф. діапазон	Одиниці
1 WBC	0.23	↓	4.00-9.00	10^9/L
2 Neu%	**.*		47.0-72.0	%
3 Lym%	**.*		19.0-37.0	%
4 Mon%	**.*		3.0-11.0	%
5 Eos%	**.*		0.5-5.0	%
6 Bas%	**.*		0.0-1.0	%
7 Neu#	***.**		2.00-7.00	10^9/L
8 Lym#	***.**		0.80-4.00	10^9/L
9 Mon#	***.**		0.12-1.20	10^9/L
10 Eos#	***.**		0.02-0.50	10^9/L
11 Bas#	***.**		0.00-0.10	10^9/L
12 *ALY#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
13 *ALY%	**.*		0.0-2.0	%
14 *LIC#	***.**		0.00-0.20	10^9/L
15 *LIC%	**.*		0.0-2.5	%
16 RBC	0.10	↓	3.50-5.50	10^12/L
17 HGB	0	↓	115-165	g/L
18 HCT	0.6	↓	37.0-54.0	%
19 MCV	***.*		80.0-100.0	fL
20 MCH	***.*		27.0-34.0	pg
21 MCHC	****		320-360	g/L
22 RDW-CV	**.*		11.0-16.0	%
23 RDW-SD	***.*		35.0-56.0	fL
24 PLT	676	↑	180-400	10^9/L
25 MPV	8.5		6.5-12.0	fL
26 PDW	9.7		9.0-17.0	fL
27 PCT	0.576	↑	0.108-0.282	%
28 P-LCR	27.2		11.0-45.0	%
29 P-LCC	184	↑	30-90	10^9/L

Попередження WBC
Лейкопения

Попередження RBC
Анемия

Попередження PLT
Тромбоцитоз

Базофіли _____ 0 - 1.0 %
Еозинофіли _____ 0.5 - 5.0 %
Міелоцити _____
Метамієлоцити _____
Паличкоядерні _____ 1 - 6 %
Сегментоядерні _____ 47 - 72 %
Лімфоцити _____ 19 - 37 %
Моноцити _____ 3 - 11 %
ШОЕ _____ мм/г

Лікар: Оператор:

Рисунок 5.34 – Результат аналізу клітинного складу дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів пацієнта О. (№ історії хвороби 578575) після другого етапу керованої кроідеструкції

Як бачимо, на представленому аналізі після першого етапу керованої кроідеструкції кількість тромбоцитів у біотехнологічному продукті знизилася з 835×10^9/л до 676×10^9/л.

Використання запропонованого способу приготування дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини забезпечує можливість отримання продукту з покращеними технічними характеристиками.

5.4.2 Нові способи отримання та застосування біотехнологічних продуктів для субхондрального внутрішньокісткового введення на основі кісткового скаффолда, виготовленого за технологією госпітального кісткового банку та аутологічних клітинних концентратів

Способи отримання базуються на комбінації скаффолда – алогенного кісткового матриксу, отиманого за технологією госпітального кісткового банку та індукторів – аутологічних клітинних концентратів [244].

Скаффолд готують з донорської головки стегнової кістки пацієнта, вилученої при ендопротезуванні кульшового суглоба за технологією госпітального кісткового банку [245].

Видаляють залишки м’яких тканин, проводять термічну обробку 90 хв в апараті Lobator при 82,5^{0}C, охолоджують, роблять мікробіологічне дослідження. Після отримання негативного результату мікробіологічного дослідження виготовляють біотехнологічний продукт.

Скаффолд подрібнюють за допомогою спеціальних кісткових млинів у два етапи (рис. 5.35–5.36).

Рисунок 5.35 – Фото першого етапу подрібнення кісткового скаффолду за допомогою кісткового млина (пояснення в тексті)

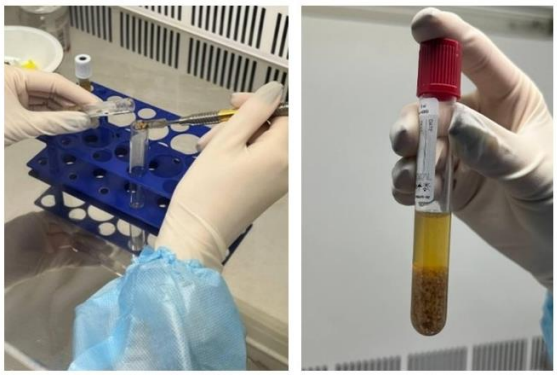
Рисунок 5.36 – Фото другого етапу подрібнення кісткового скаффолду за допомогою кісткового млина та остаточний вигляд отриманого біотехнологічного продукту (пояснення в тексті)

Отриманий біотехнологічний продукт фасували в кріопробірки та заморожували в кріокамері при температурі мінус 20ºС. Перед застосуванням розморожували при кімнатній температурі протягом 1 години. Усі маніпуляції з біологічним матеріалом проводили з дотриманням асептичних умов в ламінарному боксі для захисту продукту від контамінації

Розробили способи комбінованого застосування скаффолду та аутологічних клітинних концентратів периферичної крові, кістквого мозку та жирової тканини [246-250].

Зареєстрували нову технологію «Біотехнологічний продукт для субхондрального внутрішньокісткового введення» (державний реєстраційний номер 0624U000101), яка полягає в наступному. Висококонцентровану аутологічну збагачену тромбоцитами плазму готують за допомогою двохетапного центрифугування, попередньо відібравши периферичну кров пацієнта. Першим етапом центрифугують цільну кров, розділяючи плазму та форменні елементи при 1500 об/хв протягом 10 хв, другим- відбирають плазму, переносять у пробірки без наповнювача і центрифугують при 3500 об/хв 5 хв. Осад з концентратом тромбоцитів ресуспендують у плазмі, збідненій

тромбоцитами. В подальшому змішували отриманий концентрат периферичної крові з кістковим скаффолдом наступним чином – переносимо кістковий скаффолд та концентрат периферичної крові у нову пробірку (рис. 5.37 а, б).



а) б)

Рисунок 5.37 – Фото додавання кісткового скаффолду в нову пробірку (а) та отримання комбінації скаффолду та концентрату периферичної крові (б) (пояснення в тексті)

Наступним етапом обробляємо отриману комбінацію на центрифузі вортекс (Biosan, Латвія) до отримання однорідної суспензії (рис. 5.38).

а) б)

Рисунок 5.38 – Фото обробки комбінації кісткового скаффолду та концентрату периферичної крові на центрифузі вортекс (а), отримання однорідної суспензії (б)

Наступним етапом набираємо отриману суспензію через троакар для внутрішньокісткових маніпуляцій розміром G8 у трьохкомпонентний шприц по типу Luer Lock 10 мл, після чого біотехнологічний продукт готовий для внутрішньокісткового введення (рис. 5.39 а, б). Всі маніпуляції виконуємо в ламінарному боксі для захисту біотехонлогічного продукту.

а) б)

Рисунок 5.39 – Фото отримання нового біотехнологічного продукту для субхондрального внутрішньокісткового введення: набирання суспензії через троакар для внутрішньокісткових маніпуляцій (а) та готовий продукт (б)

Розроблений біотехнологічний продукт має антибактеріальні та посилені регенеративні властивості, що дозволяє прискорити загоєння пошкодженої кісткової тканини, зменшує ризик виникнення інфекційного процесу в післяопераційному періоді, оптимізує процеси регенерації, рекрутизації та проліферації, ремоделяції кісткової тканини, стимулює процеси міграції клітин в пошкоджені тканини завдяки факторам росту.

РОЗДІЛ 6
МЕТОДОЛОГІЯ ОБСТЕЖЕННЯ ПАЦІЄНТІВ ТА ЗАСТОСУВАННЯ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ІНТЕРВЕНЦІЙНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗІ ТА АСЕПТИЧНОМУ НЕКРОЗІ КУЛЬШОВОГО ТА КОЛІННОГО СУГЛОБІВ

6.1 Методологія обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій

Розроблено методологію клінічного, лабораторного та інструментального обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосування регенеративних інтервенційних технологій [251].

6.1.1 Критерії оцінки та інтерпретація результатів обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового і колінного суглобів за допомогою опитувальників

Результати опитування для Knee Society Score оцінювали наступним чином: менше 60 балів – незадовільно; 60–69 балів – задовільно; 70–79 балів – добре; 80–100 балів – відмінно.

Результати опитування для Oxford Knee Score та Oxford Hip Score оцінювали наступним чином: від 0 до 19 балів – важкий перебіг остеоартрозу кульшового або колінного суглоба; від 20 до 29 балів – перебіг остеоартрозу середньої важкості; від 30 до 39 балів – легкий перебіг остеоартрозу; від 40 до 48 балів – функція суглоба задовільна.

Оцінка результатів опитування для Harris Hip Score проводилася наступним чином: < 60 балів – незадовільно; 60–69 балів – задовільно; 70–79 балів – добре; >80 балів – відмінно.

Оцінка результатів опитування для шкал Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) та Hip disability and Osteoarthritis Outcome Score (HOOS) проводилася згідно наступних формул для кожного блоку запитань:

- Біль: 100 – середній бал (P1 - P10) × 100 / 4 = Індекс больового синдрому;
- Симптоми: 100 – середній бал (S1 - S5) × 100 / 4 = Індекс симптомів;
- Функція, повсякдення життя: 100 – середній показник (A1 - A17) × 100/4 = Індекс функції та повсякденного життя
- Спортивні та розважальні заходи: 100 – середній бал (SP1−SP4) × 100 /4 = Індекс спортивного житя та розважальні заходи
- Якість життя: 100 – середній бал (Q1− Q4)×100/ 4 = Індекс якості життя

Оцінка результатів опитування для шкали WOMAC для кульшового та колінного суглобів проводилася згідно наступних формул для кожного блоку запитань:

- Біль: 100 – середній бал (P1 – P10) × 100 / 4 = Індекс больового синдрому;
- Симптоми: 100 – середній бал (S1 – S5) × 100 / 4 = Індекс симптомів;
- Функція, повсякдення життя: 100 – середній показник (A1 – A17) × 100/4 = Індекс функції та повсякденного життя

Інтерпретація результатів застосування опитувальників у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, незалежно від варіанту опитувальника проводилася наступним чином:

- при незадовільних результатах пацієнт потребує додаткового обстеження (УЗД, рентгенографія, МРТ) для вирішення питання про доцільність застосування регенеративних технологій або одного з варіантів оперативного лікування;
- при задовільних результатах пацієнт потребує додаткового обстеження (УЗД, рентгенографія, МРТ) для вирішення питання про тактику застосування регенеративних технологій);

- при добрих результата пацієнт потребує додаткового обстеження (УЗД, рентгенографія, МРТ) з метою подальшого динамічного спостереження та вирішення питання про застосування регенеративних технологій з профілактичною метою;
- при відмінних результатах пацієнт потребує динамічного спостереження.

Результати опитування пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів представлеі на рис. 6.1.

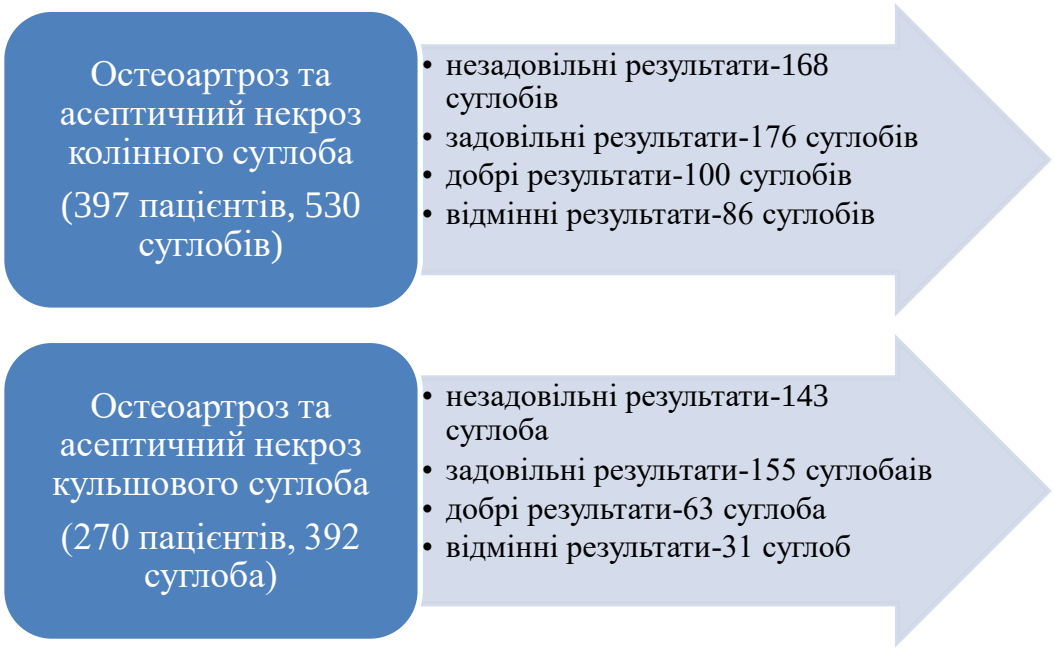


Рисунок 6.1 – Результати опитування пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів за допомогою опитувальників якості життя

6.1.2 Особливості лабораторного обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій

Особливістю лабораторного обстеження пацієнтів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій було проведення онкоскринінгу шляхом дослідження епігенетичних маркерів мікроРНК 21, мікроРНК 214 та мікроРНК 182. При наявності у пацієнта в спадковому анамнезі онкологічного

захворювання, проводили дослідження профілю експресії мікроРНК для скринінгу найбільш розповсюджених новоутворень. Дослідження провели у 36 пацієнтів, яким планувалося введення біотехнологічних продуктів аспірату кісткового мозку та жирової тканини. Зміни епігенетичної регуляції заначених генів асоційовані з порушеннями клітинного циклу, метаболічної активності клітин, а також вивільненням ними різноманітних сигнальних молекул у кровоносне русло. Зміни епігенетичної регуляції зазначених генів спостерігаються ще до появи клінічних ознак багатьох злоякісних новоутворень.

Інтерпретацію результатів епігенетичного дослідження проводили наступним чином:

- При відсутності відхилень досліджуваних мікроРНК від референтних значень (відсутній ризик виникнення онкозахворювань) – лікування за допомогою біотехнологічних продуктів, що містять стовбурові клітини не протипоказане –група 1;
- При відхиленні однієї з трьох досліджуваних мікроРНК від референтних значень (відсутній ризик виникнення онкозахворювань) - лікування за допомогою біотехнологічних продуктів, що містять стовбурові клітини не протипоказане, показаний онкоскринінг в динаміці через 6-12 місяців – група 2;
- При відхиленні двох з трьох досліджуваних мікроРНК від референтних значень (незначний ризик виникнення онкозахворювань) – лікування за допомогою біотехнологічних продуктів, що містять стовбурові клітини не протипоказане та можливе після проходження пацієнтом профілактичного медичного огляду у суміжних спеціалістів, показаний онкоскринінг 1 раз на 3-6 місяців – група 3;
- При відхиленні усіх трьох досліджуваних мікроРНК від референтних значень (значний ризик виникнення онкозахворювань) – лікування за допомогою біотехнологічних продуктів, що містять стовбурові клітини протипоказане, показане проходження пацієнтом профілактичного медичного огляду у суміжних спеціалістів, та онкоскринінг 1 раз на 3-6 місяців – група 4.

Результати дослідження пацієнтів представлені у таблиці 6.1:

Таблиця 6.1 – Результати обстеження пацієнтів, яким проводився онкоскринінг з метою виявлення протипоказань до застосування регенеративних технологій

Група ризику	1	2	3	4
Кількість пацієнтів	19	12	4	1

Приклад такого дослідження представлено на рис. 6.2–6.4.

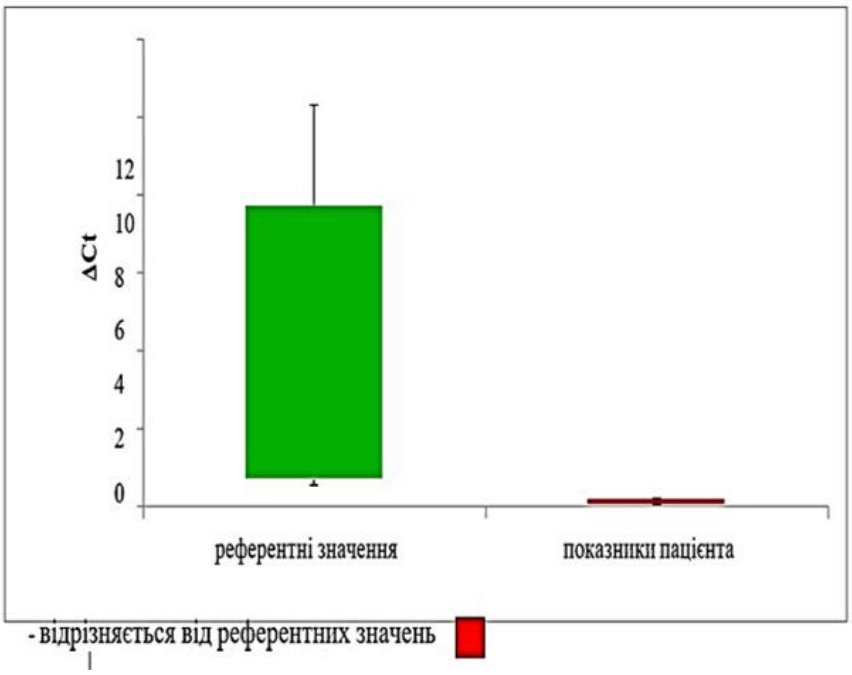


Рисунок 6.2 – Показники експресії мікроРНК 21, мішенню якої є онкогени (NANOG, c-Myc, BCL-2,SP1) та онкосупресори (β-катенін, AP2) пацієнта, якому проводився онкоскринінг з метою виявлення протипоказань до застосування регенеративних технологій

Ці гени відповідають за реакцію клітин у відповідь на зовнішні фактори, відновлення пошкоджень ДНК та проходження клітинного циклу Зміни епігенетичної регуляції зазначених генів спостерігаються ще до появи клінічних ознак гормонзалежних злоякісних новоутворень.

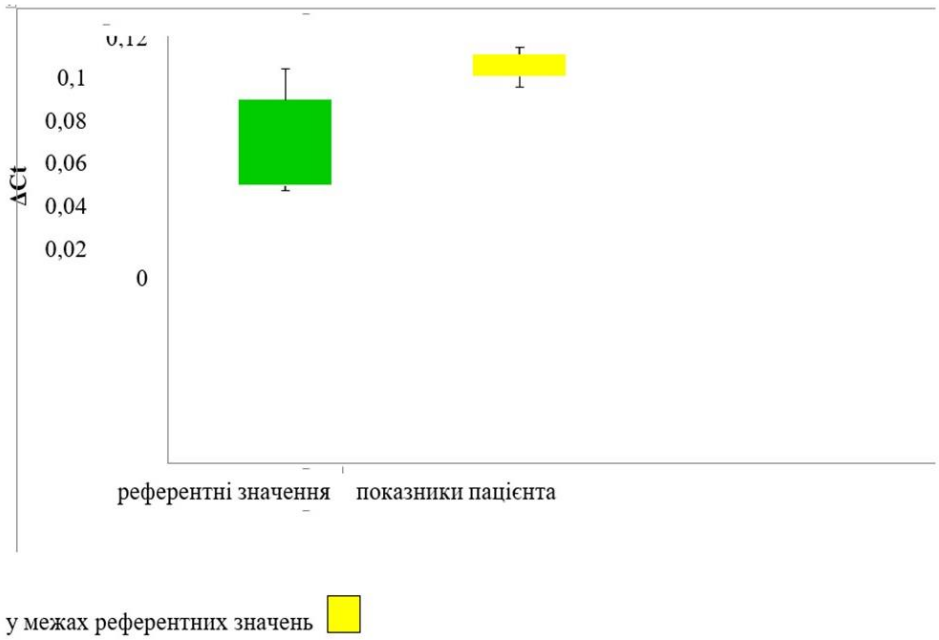


Рисунок 6.3 – Показники експресії мікроРНК 214, мішенню якої є онкогени (STAT3, mTOR, AKT) та онкосупресори (Rb1, PTEN) пацієнта, якому проводився онкоскринінг з метою виявлення протипоказань до застосування регенеративних технологій

Порушення експресії цих генів призводить до зміни проліферативної активності клітин та їх адгезивних властивостей, а також до ангіогенезу.

Зміни епігенетичної регуляції зазначених генів спостерігаються ще до появи клінічних ознак багатьох злоякісних новоутворень.

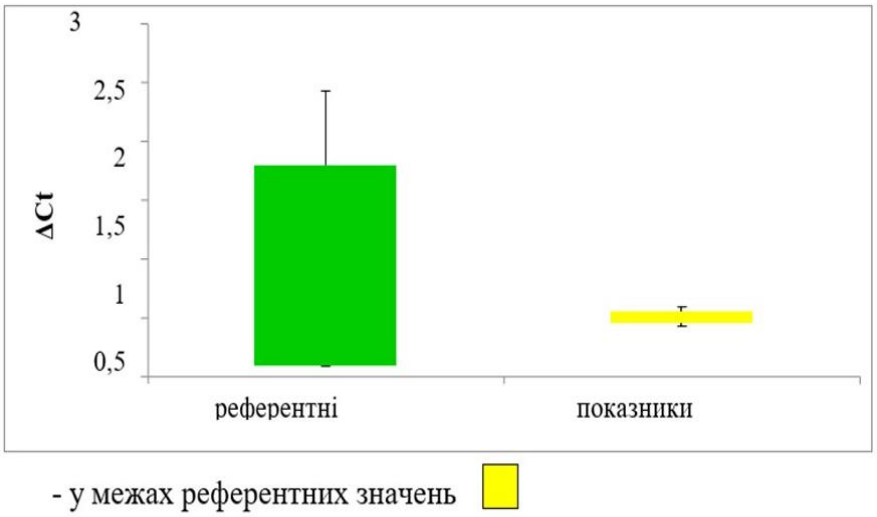


Рисунок 6.4 – Показники експресії мікроРНК 182, мішенню якої є онкогени (RAB27A, NF-κB, E2F6) та онкосупресори (CEBPA, p53, BRCA1) пацієнта, якому проводився онкоскринінг з метою виявлення протипоказань до застосування регенеративних технологій

6.1.3 Оцінка результатів інструментального обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій

Рентгенологічне обстеження. Для оцінки стану суглоба визначали типові ураження, а саме, звуження суглобової щілини, наявність кист, склероз субхондральної кісткової тканини, наявність остеофітів, при асептичному некрозі – зону ураження, наявність чи відсутність ознак колапсу.

Для оцінки стадії остеоартрозу використовували класифікацію вираженості радіологічних змін Келлгрена-Лоуренса [252-255]**:** 0 – ураження відсутні; 1 – дрібні остеофіти; 2 – виражені остеофіти; 3 – великі остеофіти та помірне звуження суглобової щілини; 4 – дуже великі остеофіти, суглобова щілина дуже звужена, субхондральний остеосклероз.

Ультразвукове обстеження. Ультразвукове дослідження використовували в усіх пацієнтів, яким було показане застосування

регенеративних технологій з метою виявлення ушкоджень м'якотканинних структур кульшового та колінного суглобів.

При обстеженні кульшового суглоба шляхом розміщення датчика в передній діагональній площині оцінювали стан передньої частини капсули кульшового суглоба, визначали наявність синовіїту, візуалізували губу вертлюжної западини, прямий та кравецький м'яз, м'яз-напружувач широкої фасції стегна та клубово-поперековий м'яз. Шляхом розміщення датчика у передній поперечній площині оцінювали стан передньої напівсфери головки стегнової кістки, візуалізували стегнову артерію, суглобову капсулу прямий та кравецький м'яз, клубово-поперековий м'яз. При положенні датчика у латеральній (проксимальній) поздовжній площині оцінювали стан латеральної напівсфери головки стегнової кістки та візуалізували верхівку великого вертлюга, широку фасцію стегна, капсулу суглоба, середній та малий сідничі м'язи. Шляхом розміщення датчика у латеральній (дистальній) поздовжній площині візуалізували великий вертлюг та сумку великого вертлюга. При розміщенні датчика у задній поздовжній площині візуалізували головку стегнової кістки, суглобову капсулу та сідничі м'язи.

При обстеженні колінного суглоба шляхом розміщення датчика у наднадколінниковій поздовжній площині визначали наднадколінникову сумку та оцінювали стан сухожилка чотирьохголового м'язу стегна. При розміщенні датчика у наднадколінниковій поперечній площині визначали наявність синовіїту та хондроматозних тіл. У наднадколінниковій поперечній тангенціальній площині візуалізували стегново-надколінниковий суглоб. Шляхом розміщення датчика у піднадколінниковій поздовжній площині оцінювали стан нижнього полюсу надколінка, горбистості великогомілкової кістки, зв'язки надколінка, препателярної сумки. У піднадколінниковій поперечній площині оцінювали жирове тіло та зв’язку наколінника. При розміщенні датчика у підколінній центральній поздовжній площині оцінювали жирове тіло підколінної ямки, а також візуалізували каудальну та середню частину задньої хрестоподібної зв’язки, оцінювали стан задньої частини

капсули колінного суглоба. У підколінній медіальній поздовжній площині візуалізували задній ріг медіального меніска, наявність кист меніска або кисти Бейкера. Шляхом розміщення датчика у підколінній латеральній поздовжній площині візуалізували задній ріг латерального меніска та суглобову капсулу. При розміщенні датчика у підколінній поперечній проксимальній площині візуалізували місце прикріплення передньої хрестоподібної зв'язки до стегнової кістки, а також підколінну артерію. У підколінній поперечній дистальній площині оцінювали стан задньої частини капсули колінного суглоба, суглобової капсули та візуалізували місце прикріплення задньої хрестоподібної зв'язки до великогомілкової кістки, судинно-нервовий пучок та обидві головки литкових м'язів. Шляхом розміщення датчика у латеральній поздовжній площині оцінювали стан латеральної частини капсули та зв'язкового апарату колінного суглоба (латеральну колатеральну зв'язку). У медіальній поздовжній площині оцінювали стан медіальної частини капсули колінного суглоба та медіальної колатеральної зв'язки.

Магнітно-резонансна томографія. При обстеженні кульшового суглоба у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом оцінювали наступні параметри: стан головки стегнової кістки, а саме її форму, наявність патологічних МР-сигналів, їх розміри, стан кісткового мозку навколо вогнища, наявність крайових кісткових розростань; стан кульшової западини, а саме її форму, конгруентність суглобових поверхонь головки та западини; стан субхондральних відділів вертлюгової западини, визначення ділянок кистоподібної перебудови; стан суглобової щілини; стан суглобового хряща - його висоту, інтенсивність сигналу; стан суглобової губи – МР-сигнал, контури суглобової губи; стан порожнини кульшового суглоба, вміст рідини у ній; стан ішіо-феморального простору; стан параартикулярних м'яких тканинах; стан шийки стегнової кістки; стан сухожилків сідничних м'язів.

При обстеженні колінного суглоба у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом оцінювали наступні параметри: стан кісток, які

формують колінний суглоб, їх форма і положення; стан суглобової щілини; стан суглобових поверхонь, наявність кісткових остеофітів виростків стегнової та великогомілкової кісток; стан суглобового хряща, що покриває виростки стегнової і великогомілкової кістки, надколінник, однорідність сигналу; стан медіального меніска – гомогенність структури, наявність ділянок підвищеної інтенсивності, положення; стан латерального меніска – гомогенність структури, наявність ділянок підвищеної інтенсивності, положення; стан передньої хрестоподібної зв'язки – форма і положення, МР-сигнал; стан задньої хрестоподібної зв'язки – форма і положення, МР-сигнал; стан колатеральних зв'язок, їх товщину і характеристики сигналу; стан зв'язок надколінка; наявність рідини в заворотах, сумках та в порожнині суглоба; стан надколінка, його тип (за Wiberg); стан блоку стегнової кістки, наявність диспластичних ознак; індекс Інсалл-Салваті; стан кортикального субхондрального шару, його контури і товщину, зміни сигналу.

Для оцінки стану кульшового та колінного суглобів при МРТ використовували наступні шкали:

Класифікація асептичного некрозу головки стегнової кістки за Ficat and Arlet [256-259]:

Стадія 0: оглядова рентгенограма в нормі, МРТ в нормі, клінічні симптоми відсутні; I стадія: оглядова рентгенограма - норма або незначна остеопенія, МРТ – набряк, сканування кісток - підвищене поглинання, клінічна симптоматика - біль, як правило, в паху; II стадія: рентгенограма - змішана остеопенія та/або склероз та/або субхондральні кісти, без будь-якої субхондральної прозорості (знак півмісяця), МРТ - географічний дефект, сканування кісток - підвищене поглинання, клінічні симптоми - біль і скутість; III стадія: рентгенограма - знак півмісяця та можливий кортикальний колапс, МРТ - те саме, що звичайна рентгенограма, клінічні симптоми - біль і скутість +/- іррадіація в коліно і кульгавість; IV стадія: рентгенограма - кінцева стадія з ознаками вторинних дегенеративних змін, МРТ - те саме, що й рентгенограма, клінічні симптоми - біль і кульгавість.

Класифікація асептичного некрозу за ARCO [260-261]:

стадія 0

оглядова рентгенограма: в нормі

МРТ: в нормі

клінічно: симптомів немає

I стадія

оглядова рентгенограма: в нормі

МРТ або сканування кісток: відхилення від норми

клінічно: відсутність симптомів або ознаки наявності

II стадія

оглядова рентгенограма: зміни трабекулярної кістки без змін субхондральної кістки; збережена суглобова щілина

МРТ: відхилення від норми, діагностичний вигляд

клінічно: наявні симптоми

III стадія

наявність змін трабекулярної кістки та субхондрального перелому (знак півмісяця або колапс субхондральної кістки); збережена суглобова щілина

клінічно: наявні симптоми

далі поділяються залежно від глибини западини головки стегнової кістки: IIIA - западина ≤2 мм, IIIB - западина >2 мм

стадія IV

ознаки остеоартрозу з деформованою головкою стегнової кістки, змінами кульшової западини та звуженою суглобовою щілиною

клінічно: наявні симптоми

Класифікація асептичного некрозу за Steinberg [262]:

стадія 0: нормальні або недіагностичні рентгенограми, МРТ і сканування кісток хворої кінцівки (часто залучене контралатеральне стегно або пацієнт має фактори ризику та біль у стегні)

I стадія: нормальна рентгенограма, аномальне сканування кісток та/або МРТ

II стадія: кістозно-склеротичні рентгенологічні зміни

III стадія: субхондральний просвіт або ознака півмісяця

IV стадія: сплощення голівки стегнової кістки із заглибленням, що прогресує

легкий: <2 мм

помірний: 2-4 мм

тяжкий: >4 мм

V стадія: звуження суглобової щілини з ураженням кульшової западини або без нього

VI стадія: прогресуючі дегенеративні зміни

Кількісна оцінка ступеня залучення необхідна для стадій I–V:

стадія I і II

A-легкий: <15% ураження голови, як видно на рентгенограмі або МРТ

B-помірний: від 15% до 30%

C-тяжкий: >30%

III стадія

A-легкий: субхондральний колапс (півмісяць) менше<15% поверхні суглоба

B-помірний: півмісяць від 15% до 30%

C-тяжкий: півмісяць нижче >30%

IV стадія

A-легкий: <15% поверхні зруйновано, а западина становить <2 мм

B-помірний: колапс від 15% до 30% або западина на 2-4 мм

C-тяжкий: >30% колапсу або >4 мм депресії

V стадія

A, B або C: середнє ураження головки стегнової кістки, як визначено при стадії IV, та ураження кульшової западини

Класифікація асептичного некрозу за Mitchell [263-265]:

стадія A

T1: гіперінтенсивний

T2: проміжний

сигнал, аналогічний сигналу жиру

стадія Б

T1: гіперінтенсивний

T2: гіперінтенсивний

сигнал, аналогічний сигналу підгострого крововиливу

стадія С

T1: гіпоінтенсивний

T2: гіперінтенсивний

сигнал, аналогічний сигналу рідини/набряку

стадія D

T1: гіпоінтенсивний

T2: гіпоінтенсивний

сигнал, аналогічний сигналу фіброзу

При асептичному некрозі кульшового суглоба для визначення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій використовували класифікацію Japanese Investigation Committee [266] (рис. 6.5):

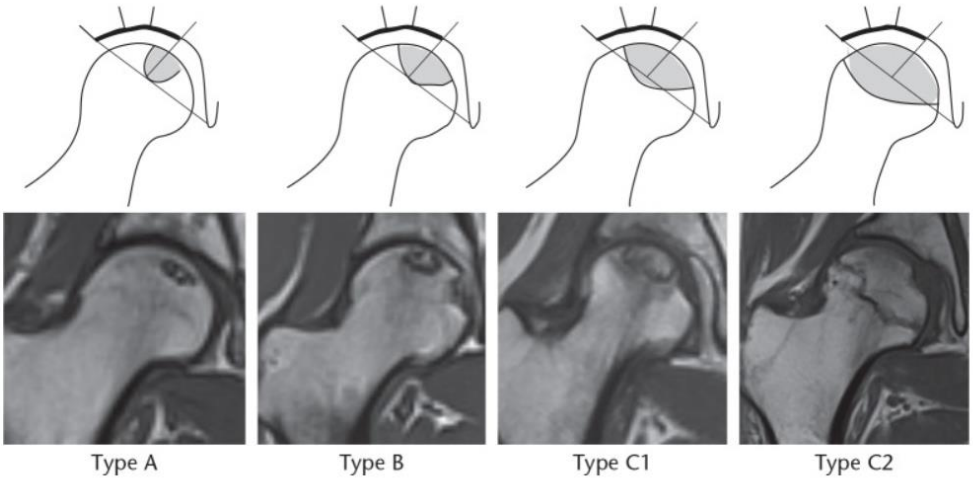


Рисунок 6.5 – Класифікація асептичного некрозу головки стегнової кістки Japanese Investigation Committee для прогнозування перебігу асептичного некрозу кульшового суглоба [266]

Згідно зазначеної класифікації обсяг ураження головки стегнової кістки відповідає типам A, B та C. Тип C в свою чергу розподіляється на тип C1 та C2.

Також виділяють преколаптоїдну та колаптоїдну стадію. В преколаптоїдній стадії ризик руйнування головки стегнової кістки є наступним:

- При типі А ризик руйнування головки відсутній;
- При типі В ризик руйнування складає близько 10%;
- При типі С1 ризик руйнування складає близько 30%;
- При типі С2 ризик руйнування складає близько 70%.

Таким чином методологія інструментального обстеження пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій включає наступні кроки (рис. 6.6):

Рисунок 6.6 – Схема методології інструментального обстеження пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій

Методологія інструментального обстеження пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій має наступну послідовність (рис. 6.7):

Рисунок 6.7 – Схема методології інструментального обстеження пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій

6.2 Ультразвукова навігація структур кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій

Нами розроблено методику ультразвукової (УЗ) навігації для введення біотехнологічних продуктів у кульшовий та колінний суглоби [267].

6.2.1 Ультразвукова навігація колінного суглоба при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій

Наднадколінниковий поздовжній доступ (рис. 6.8). З цього доступу виконували ін'єкції в сухожилок чотирьохголового м'язу стегна (1), надколінниково-стегновий суглоб (2) (рис. 6.9). Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині з розігнутою нижньою кінцівкою. Пальпується медіальний та латеральний край надколінка, а також верхній його полюс. Датчик встановлюється по центру над верхнім полюсом.

Рисунок 6.8 – Фото положення кінцівки та датчика при УЗ-навігації колінного суглоба при наднадколінниково-поздовжньому доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис.6.9) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

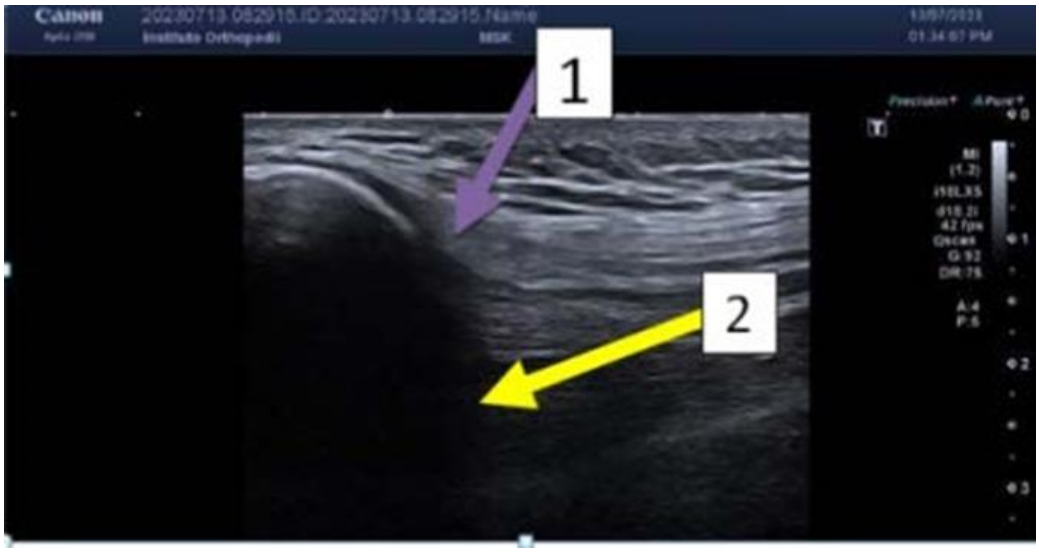


Рисунок 6.9 – Фото місць ін'єкцій у сухожилок чотирьохголового м'язу стегна (1), надколінниково-стегновий суглоб (2)

Наднадколінниковий поздовжній доступ зі згинанням в колінному суглобі (рис. 6.10)**.** З цього доступу виконували ін'єкції у верхній заворот колінного суглоба.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, під нижню третину стегна підкладається валик, досягаючи 30-40º згинання в колінному суглобі (рис. 6.10). Пальпується медіальний та латеральний край надколінка, а також верхній його полюс. Датчик встановлюється по центру над верхнім полюсом.

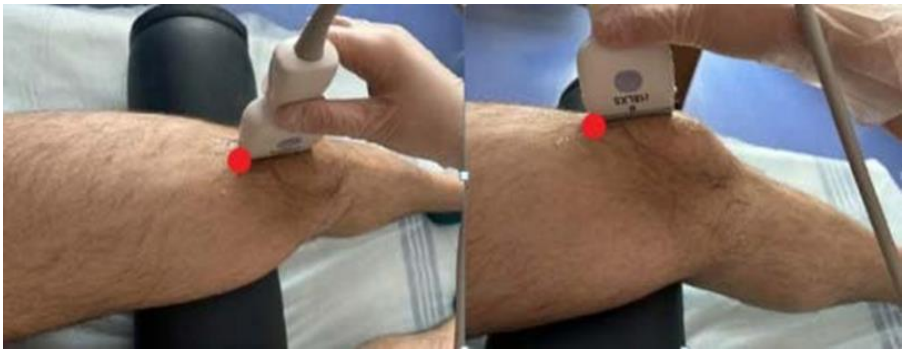


Рисунок 6.10 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при наднадколінниковому поздовжньому доступі зі згинанням в колінному суглобі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.11) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

Рисунок 6.11 – Фото місця ін'єкції у верхній заворот колінного суглоба

Піднадколінковий поздовжній доступ (рис. 6.12). З цього доступу виконували ін'єкції у власну зв'язку надколінка (1), глибоку піднадколінникову сумку (2), жирове тіло Гоффа (3).

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, під нижню третину стегна підкладається валик, досягаючи 30-40º згинання в колінному суглобі (див. рис. 6.12). Пальпується медіальний та латеральний край надколінка, а також його нижній полюс. Датчик встановлюється по центру під нижнімполюсом в проекції власної зв'язки надколінка.

Рисунок 6.12 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при піднадколінниковому поздовжньому доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.13) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

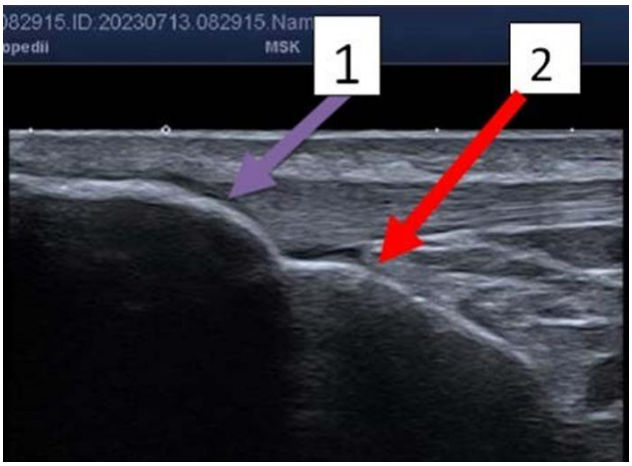


Рисунок 6.13 – Фото місць ін'єкцій у власну зв'язку надколінка (1), глибоку піднадколінкову сумку (2)

Піднадколінковий поперечний доступ (рис. 6.14). З цього доступу виконували ін'єкції у жирове тіло Гоффа.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, нижня кінцівка розігнута. Пальпується медіальний та латеральний край надколінка, а також його нижній полюс. Датчик встановлюється по центру під нижнім полюсом перпендикулярно проекції власної зв'язки надколінка (див. рис. 6.14).

Рисунок 6.14 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при піднадколінниковому поздовжньому доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту(рис. 6.15) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

Рисунок 6.15 – Фото місця ін'єкції у жирове тіло Гоффа

Латеральний поздовжній доступ зі згинанням у колінному суглобі (рис. 6.16)**.** З цього доступу виконували ін'єкції у латеральний меніск.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, під підколінну ямку підкладається валик, досягаючи 30-40º згинання в колінному суглобі (див. рис. 6.16). Пальпується головка малогомілкової кістки та суглобова щілина. Датчик встановлюється по центру в проекції латерального відділу суглобової щілини.

Рисунок 6.16 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при латеральному поздовжньому доступі зі згинанням у колінному суглобі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.17) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

Рисунок 6.17 - Фото місця ін'єкції у латеральний меніск

Медіальний поздовжній доступ зі згинанням у колінному суглобі (рис. 6.18). З цього доступу виконували ін'єкції у медіальний меніск.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, під підколінну ямку підкладається валик, досягаючи 30-40º згинання в колінному суглобі (див. рис. 6.18). Пальпується суглобова щілина. Датчик встановлюється по центру в проекції медіального відділу суглобової щілини.

Рисунок 6.18 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при медіальному поздовжньому доступі зі згинанням у колінному суглобі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.19) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

Рисунок 6.19 – Фото місця ін'єкції у медіальний меніск

Медіальний поперечний доступ (рис. 6.20). З цього доступу виконували ін'єкції у медіальний відділ суглобової щілини.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, кінцівка перебуває в розігнутому положенні (див. рис. 6.20). Пальпується медіальний край надколінка та суглобова щілина. Датчик встановлюється в проекції медіального відділу суглобової щілини.

Рисунок 6.20 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при медіальному поперечному доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.21) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

Рисунок 6.21 – Фото місця ін'єкції у медіальний відділ суглобової щілини колінного суглоба

Латеральний поперечний доступ зі згинанням в колінному суглобі (рис. 6.22)**.** З цього доступу виконували ін'єкції у латеральну частину суглобової щілини.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, під підколінну ямку підкладається валик, досягаючи 30-40º згинання в колінному суглобі (див. рис. 6.22). Пальпується суглобова щілина. Датчик паралельно в проекції латерального відділу суглобової щілини.

Рисунок 6.22 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при латеральному поперечному доступі зі згинанням в колінному суглобі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.23) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

Рисунок 6.23 – Фото місця ін'єкції у латеральний відділ суглобової щілини колінного суглоба

Латеральний поздовжній доступ (рис. 6.24)**.** З цього доступу виконували ін'єкції в колатеральну малогомілкову зв'язку: 1-верхня третина, 2-середня третина, 3- нижня третина.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, кінцівка перебуває в розігнутому положенні (рис. 6.24). Пальпується голівка малогомілкової кістки. Датчик встановлюється в проекції колатеральної малогомілкової зв'язки.

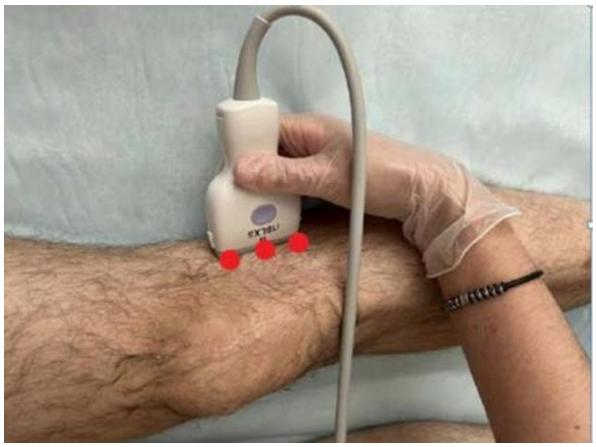


Рисунок 6.24 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при латеральному поздовжньому доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.25) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

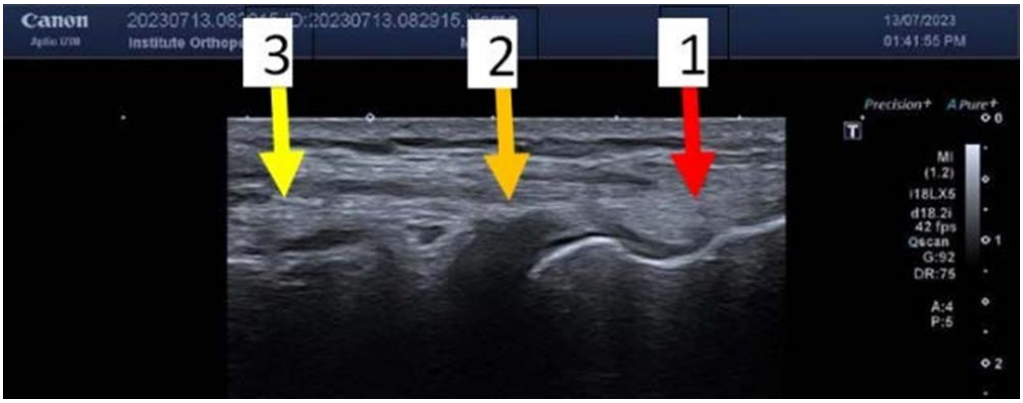


Рисунок 6.25 – Фото місць ін'єкцій у колатеральну малогомілкову зв'язку: 1 - верхню третину, 2 - середню третину, 3 - нижню третину

Медіальний поздовжній доступ (рис. 6.26). З цього доступу виконували ін'єкції в колатеральну великогомілкову зв'язку: 1 – верхня третина, 2 – середня третина, 3 – нижня третина.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, кінцівка перебуває в розігнутому положенні (див. рис. 6.26). Пальпується медіальний відділ суглобової щілини. Датчик встановлюється посередині, в проекції колатеральної малогомілкової зв'язки.

Рисунок 6.26 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при медіальному поздовжньому доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.27) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

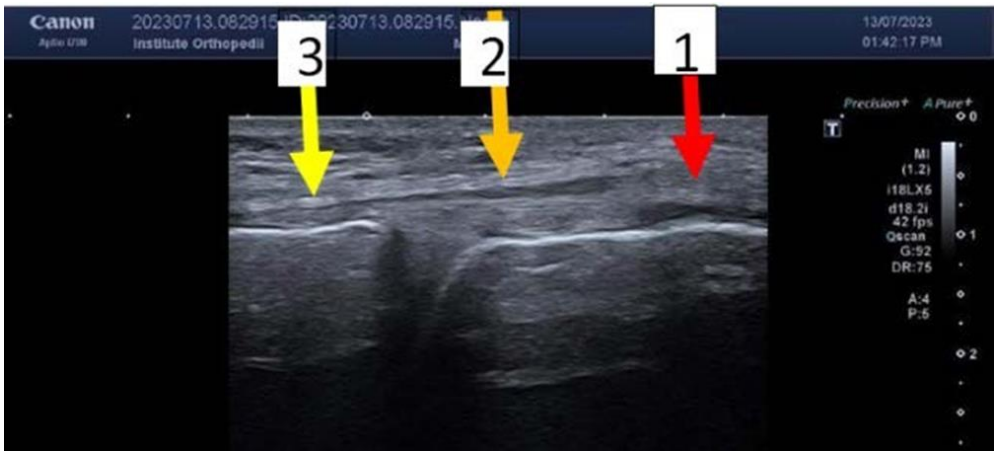


Рисунок 6.27 – Фото місць ін'єкцій у колатеральну великогомілкову зв'язку: 1 - верхню третину, 2 - середню третину, 3 - нижню третину

Піднадколінковий діагональний доступ (рис. 6.28). З цього доступу виконували ін'єкції в ділянку «гусячої лапки» колінного суглоба.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, кінцівка розігнута в колінному суглобі (див. рис. 6.28). Пальпується медіальний відділ суглобової щілини та нижній полюс надколінника. Датчик встановлюється медіальніше від нього та розташовується по діагоналі.

Рисунок 6.28 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при піднадколінковому діагональному доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.29) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

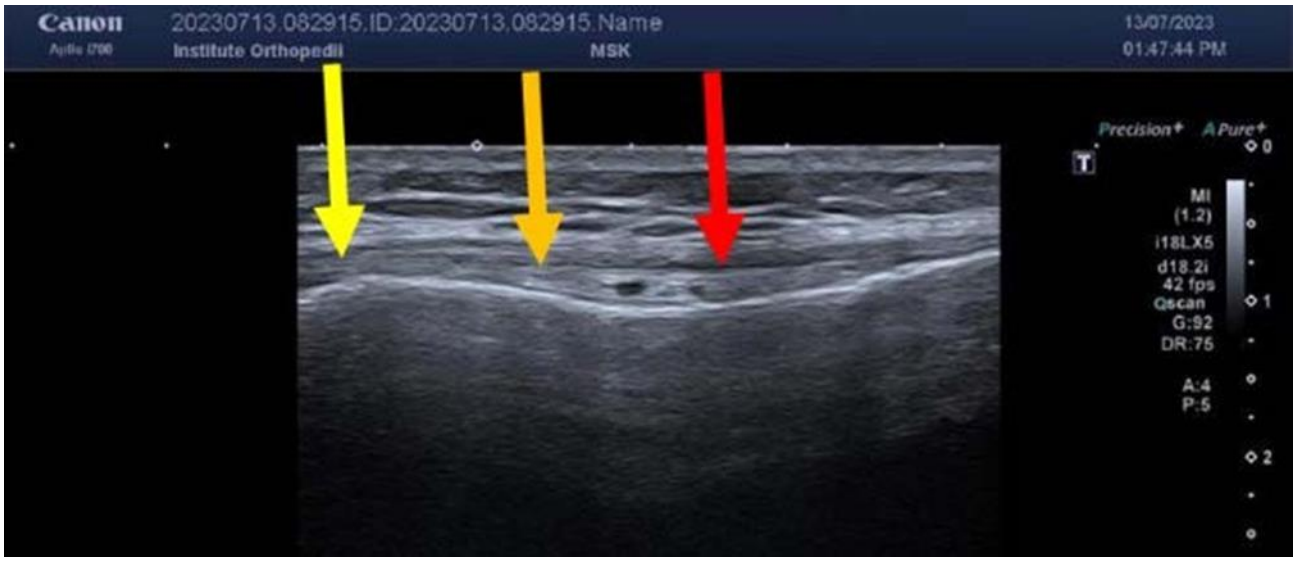


Рисунок 6.29 – Фото місць ін'єкцій у «гусячу лапку» колінного суглоба

Підколінний медіальний поздовжній доступ (рис. 6.30). З цього доступу виконували ін'єкції у медіальний меніск (1) та капсулу суглоба (2).

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на животі, кінцівка розігнута у колінному суглобі (див. рис. 6.30). Пальпується медіальний відділ суглобової щілини. Датчик встановлюється медіальніше від серединної лінії підколінної ямки.

Рисунок 6.30 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінногосуглоба при підколінному медіальному поздовжньому доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.31) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

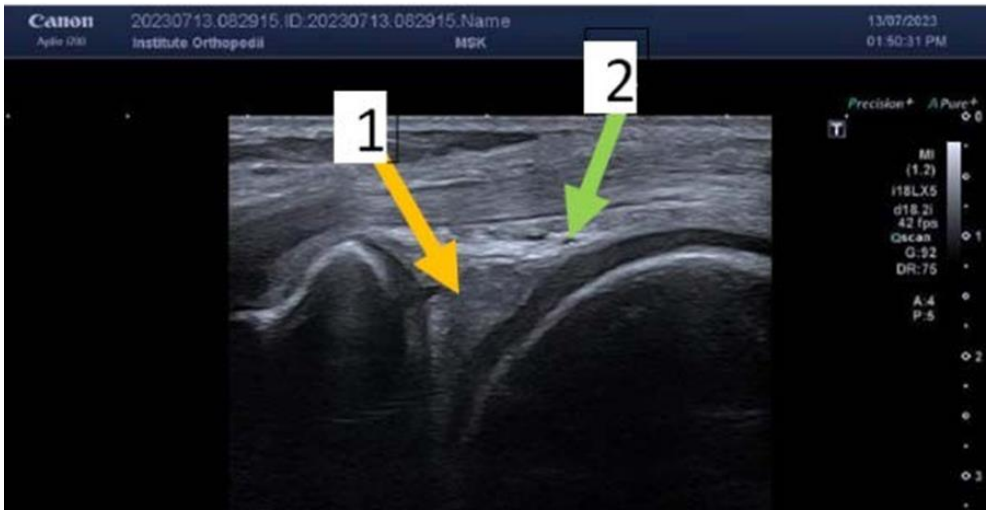


Рисунок 6.31 – Фото місць ін'єкцій у медіальний меніск (1) та капсулу суглоба (2)

Латеральний поздовжній доступ (рис. 6.32). З цього доступу виконували ін'єкції у сухожилок двоголового м'язу стегна (1) та сухожилок підколінного м'язу (2) (рис. 6.33).

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на животі, кінцівка розігнута у колінному суглобі (див. рис. 6.32). Пальпується латеральний відділ суглобової щілини та головка малогомілкової кістки. Центр датчика встановлюється в проекції суглобової щілини.

Рисунок 6.32 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації колінного суглоба при латеральному поздовжньому доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (див. рис. 6.33) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

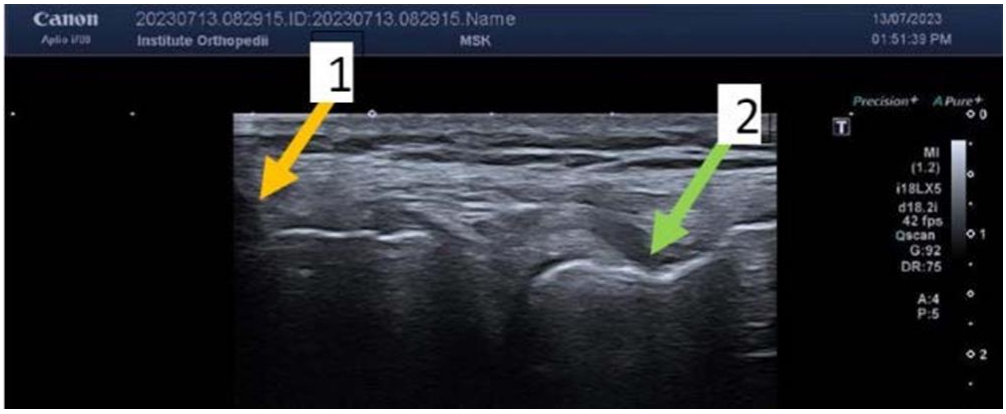


Рисунок 6.33 - Фото місць ін'єкцій у сухожилок двоголового м'язу стегна (1) та сухожилок підколінного м'язу (2)

6.2.2 Ультразвукова навігація кульшового суглоба при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій

Передній поздовжній доступ (рис. 6.34). З цього доступу виконували ін'єкції у підкапсульно-шийковий простір (внутрішньосуглобове введення).

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, кінцівка розігнута в кульшовому суглобі (див. рис. 6.34 а). Датчик встановлюється на умовній лінії, проведеній від великого вертлюга до середини пахової зв'язки,перпендикулярно до зазначеної умовної лінії.

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (див. рис. 6.34 б) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

а) б)

Рисунок 6.34 – Передній поздовжній доступ: а – фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації кульшовогосуглоба при передньому поздовжньому доступі; б – фото місця ін'єкції в підкапсульно-шийковий простір кульшового суглоба (внутрішньосуглобове введення)

Передній діагональний доступ (рис. 6.35). З цього доступу виконували ін'єкції в губу кульшового суглоба (1), капсульно-зв'язковий апарат кульшового суглоба (2), сухожилок прямого м'язу стегна (3).

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, кінцівка розігнута в кульшовому суглобі (рис. 6.35 а). Датчик встановлюється на умовній лінії, проведеній від великого вертлюга до середини пахової зв'язки, по діагоналі до зазначеної умовної лінії, паралельно проекції шийки стегнової кістки.

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.35 б) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

а) б)

Рисунок 6.35 – Передній діагональний доступ: а – фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації кульшового суглоба при передньому діагональному доступі; б – фото місць ін'єкцій в губу кульшового суглоба (1), капсульно-зв'язковий апарат кульшового суглоба (2), сухожилок прямого м'язу стегна (3)

Латеральний поздовжній доступ (рис. 6.36). З цього доступу виконували ін'єкції в паравертлюгову ділянку.

Положення пацієнта та техніка. Пацієнт перебуває в положенні на спині, кінцівка розігнута в кульшовому суглобі та перебуває в нейтральному положенні (рис. 6.36). Пальпується великий вертлюг стегнової кістки. Датчик розташовується в його проекції паралельно до осі стегнової кістки.

Рисунок 6.36 – Фото положення кінцівки та датчика УЗ-навігації кульшовогосуглоба при передньому діагональному доступі

Візуалізуємо необхідне місце введення біотехнологічного продукту (рис. 6.37) та виконуємо ін'єкцію, контролюючи введення.

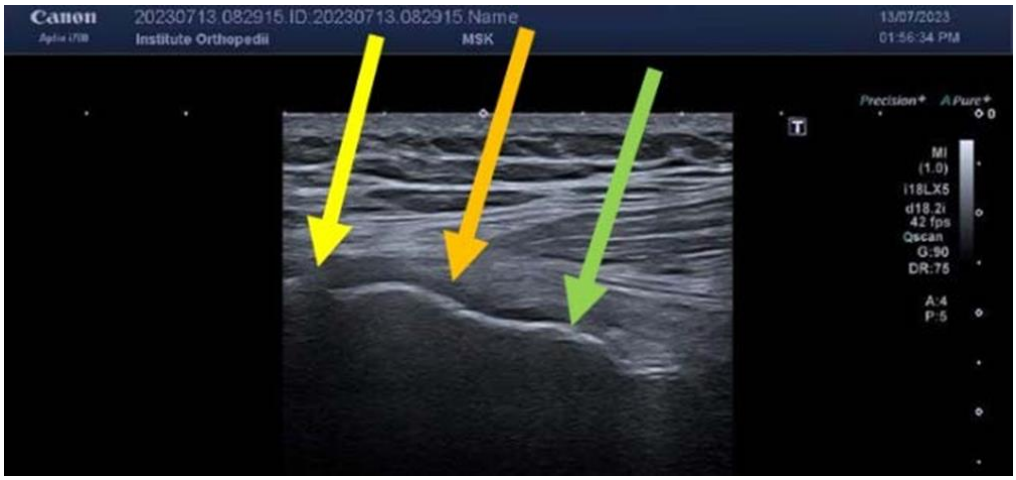


Рисунок 6.37 – Фото місць ін'єкцій в паравертлюгову ділянку

6.3 Методика внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів на прикладі асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів

В усіх випадках внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів використовували рентгенологічну навігацію за допомогою С-дуги Siemens.

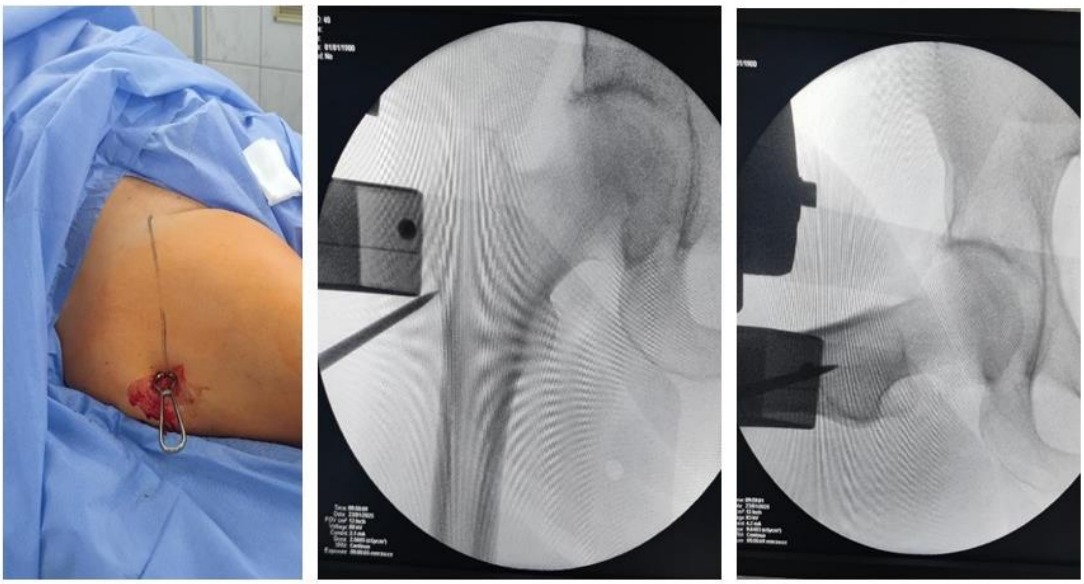
Під час оперативного втручання на кульшовому суглобі положення пацієнта на спині. Візуалізували кульшовий суглоб за допомогою С-дуги та виконували розріз до 2 см по латеральній поверхні стегна (рис. 6.38 а, б).

а)

б)

Рисунок 6.38 – Фото етапів виконання внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів при асептичному некрозі головки стегнової кістки у пацієнта Л. (№ історії хвороби 614304): а - рентгенологічна навігація, б- черезшкірний доступ

Наступним етапом встановлювали шило в місці проведення тунелізації проксимального відділу стегнової кістки та регулювали напрям її виконання в прямій та боковій проекції (рис. 6.39 а-в).

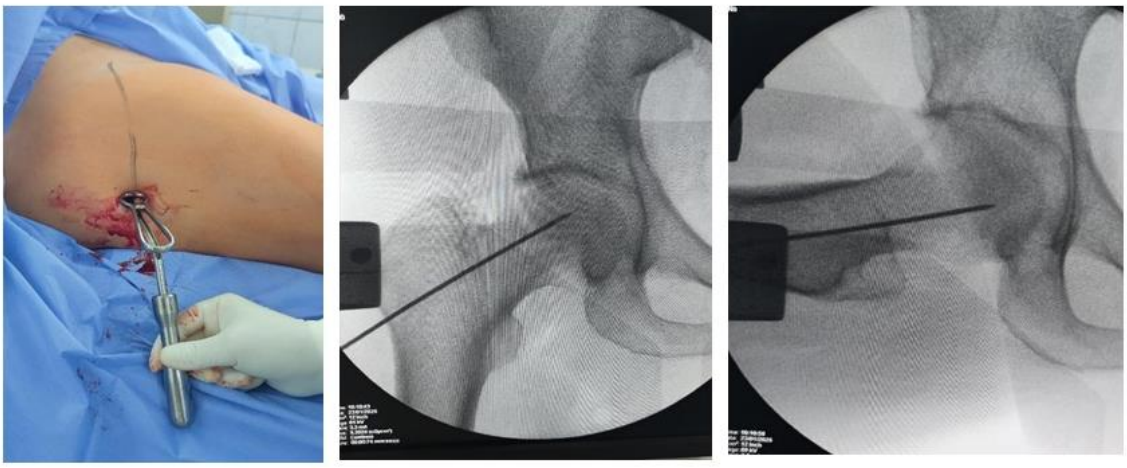


а) б) в)

Рисунок 6.39 – Фото навігації напрямку проведення тунелізації проксимального відділу стегнової кістки при асептичному некрозі головки стегнової кістки у пацієнта Л. (№ історії хвороби 614304): а - встановлення шила для вибору напрямку тунелізаційного каналу, б – рентгенологічний контроль напрямку тунелізації в прямій проекції, в - рентгенологічний контроль напрямку тунелізації в боковій проекції

Наступним етапом при допомозі навігатора забирали шило з утвореного каналу для тунелізації та проводили по каналу шпицю Кіршнера до місця введення біотехнологічного продукту. Для проведення шпиці в використовували канюльований дриль та розроблений нами навігатор [268].

Контролювали проведення спиці за допомогою С-дуги в прямій та боковій проекції (рис. 6.40 а-в).



а) б) в)

Рисунок 6.40 – Фото проведення навігаційної шпиці Кіршнера до місця введення біотехнологічного продукту в головку стегнової кістки: а – використання розробленого навігатора для заміни шила на навігаційну шпицю, б – контроль проведення шпиці в прямій проекції, в – контроль проведення шпиці в боковій проекції

Для покращення технології внутрішньокісткового введення біотехнологічного продукту розробили навігатор для проведення шпиці, свердла та троакара при тунелізації.

Направник включає ручку та робочу частину, згідно з корисною моделлю, ручка з’єднана з робочою частиною різьбовим з'єднанням, проксимальний кінець останньої виконаний у формі циліндра з переходом у жолобувате лезо під тупим кутом до осі ручки, при цьому лезо має загострений дистальний кінець.

Наявність жолобуватого леза з загостреним дистальним кінцем дозволяє без перешкод ввести направник у кістковий канал та не потребує рентгенологічного контролю при проведенні троакару. Виконання жолобуватого леза під тупим кутом по відношенню до осі ручки максимально адаптує його до особливостей будови анатомічної ділянки, де застосовується, зокрема, в проксимальному відділі стегнової кістки. Крім того, направник

можна використовувати у пацієнтів з різними антропометричними показниками.

Суть направника пояснюється ілюстраціями.

На рис. 6.41 представлено схему направника у боковій проєкції.

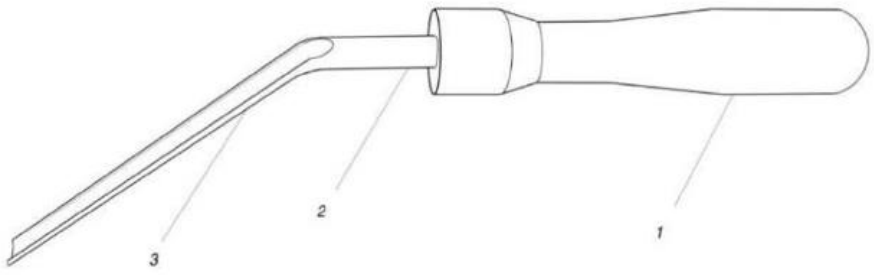


Рисунок 6.41 – Схема направника для проведення порожнистого свердла та троакара при тунелізації кістки для введення біотехнологічних продуктів

Направник для проведення троакару при тунелізації проксимального відділу стегнової кістки включає ручку 1 та робочу частину у формі циліндра 2, що під тупим кутом до осі ручки 1 переходить у жолобувате лезо 3 з загостреним дистальним кінцем (рис. 6.41), до того ж ручка 1 та робоча частина з’єднані між собою різьбовим з'єднанням.

На рис. 6.42 представлено схему жолобуватого леза направника.

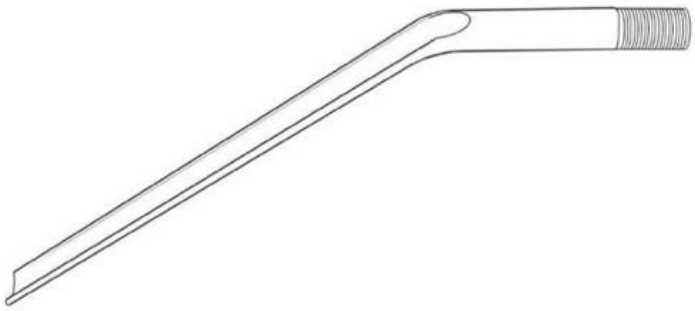


Рисунок 6.42 – Схема жолобуватого леза направника для проведення порожнистого свердла та троакара при тунелізації кістки для введення біотехнологічних продуктів

Направник при тунелізації проксимального відділу стегнової кістки використовували на етапах заміни навігаційних засобів (шило, шпиця Кіршнера, свердло, троакар) для створення кісткового тунелю.

За допомогою пристрою проводили заміну кожного навігаційного засобу на наступний. Перевагами направника є полегшення виконання хірургічної маніпуляції за рахунок точності внутрішньокісткового введення регенеративних ін'єкційних препаратів, запобігання інтерпозиції і травмування м'яких тканин під час хірургічної маніпуляції. Запропонований направник не потребує додаткового технічного устаткування та зменшує тривалість хірургічної маніпуляції. Отримано патент на корисну модель [268]. Фото направника представлено на рис. 6.43 (а-в).

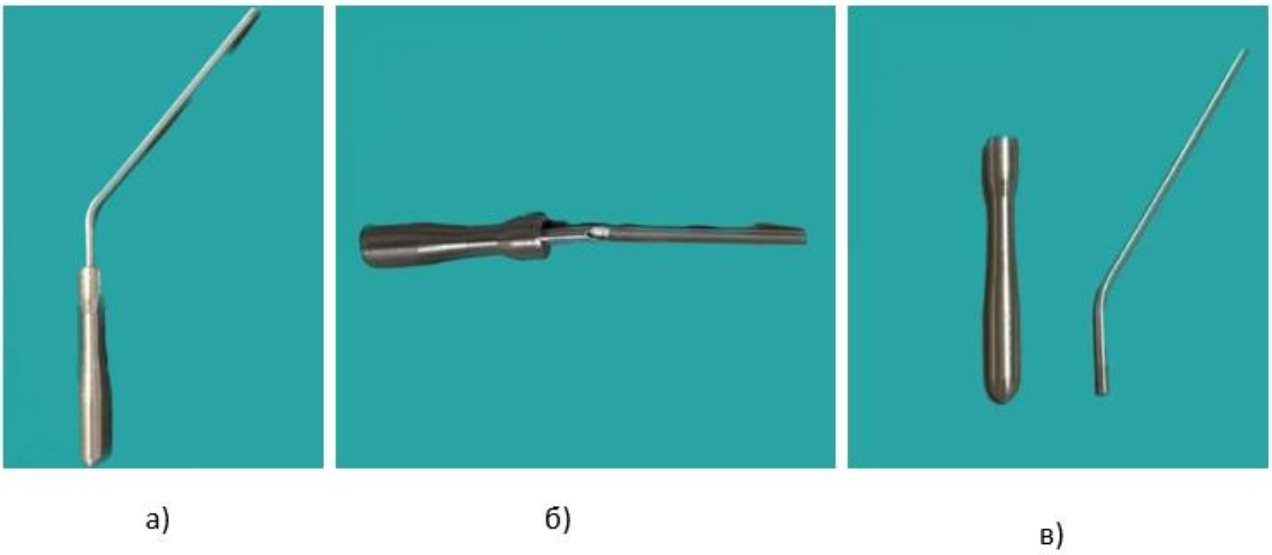
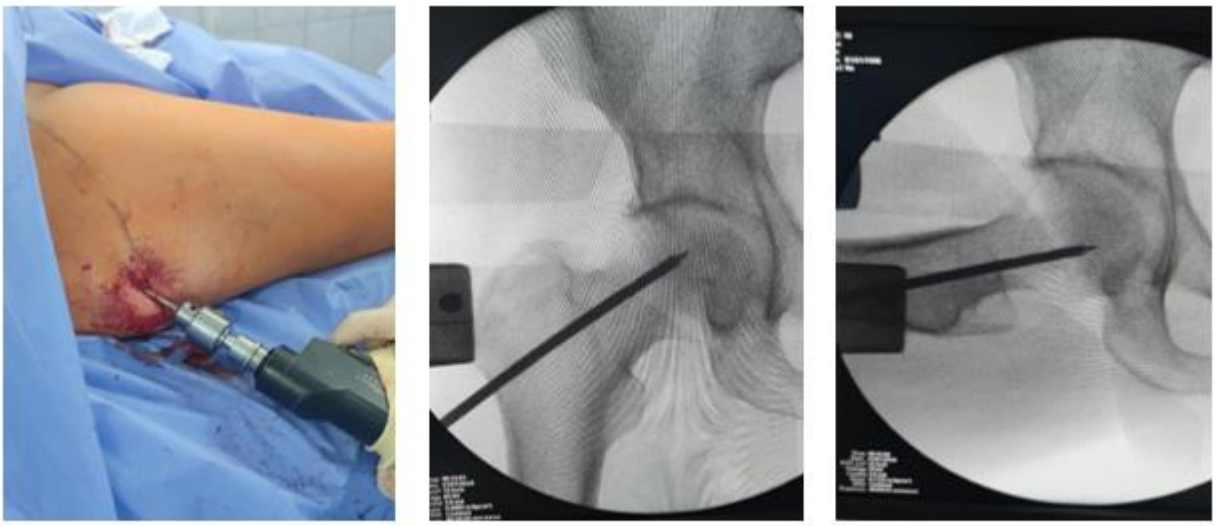


Рисунок 6.43 – Фото направника для проведення навігаційних засобів при тунелізації: а – вигляд збоку, б – вигляд зверху, в – вигляд у розібраному стані

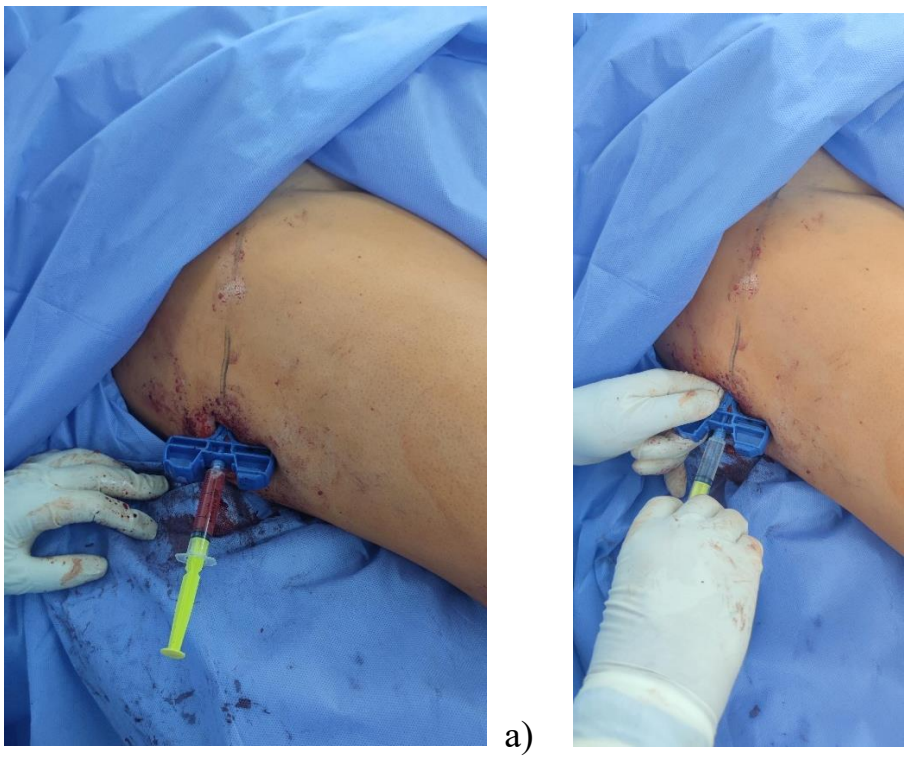
Наступним етапом за допомогою проводили по навігаційній шпиці Кіршнера канюльоване свердло діаметром 4,5 мм, створюючи канал до місця введення біотехнологічного продукту під контролем С-дуги в прямій та боковій проекції (рис. 6.44 а-в).



а) б) в)

Рисунок 6.44 – Фото створення кісткового каналу для введення біотехнологічного продукту: а – створення кісткового каналу для введення біотехнологічного продукту в субхондральну ділянку головки стегнової кістки, б – контроль створення кісткового каналу в прямій проекції, в – контроль створення кісткового каналу в боковій проекції

Після створення кісткового каналу замінювали свердло на троакар для внутрішньокісткових маніпуляцій розміром 8G. До троакара під'єднували 3-х компонентний шприц по типу Luer Lock з набраним біотехнологічним продуктом та виконували введення під контролем С-дуги. Після введення біотехнологічного продукту вводили через троакар 0,9% розчин натрію хлориду для досягнення потрапляння залишків біотехнологічного продукту зі стінок троакару в зону патологічного осередку головки стегнової кістки, а також фіксації біотехнологічного продукту в ньому (рис. 6.45 а, б).



а) б)

Рисунок 6.45 – Фото введення біотехнологічного продукту через троакар (а) та введення 0,9% розчин натрію хлориду для досягнення потрапляння залишків біотехнологічного продукту зі стінок троакару в зону патологічного осередку головки стегнової кістки (б)

При внутрішньокістковому введенні біотехнологічних продуктів в зону колінного суглоба, залежно від локалізації вогнища, по латеральній або медіальній поверхні нижньої третини стегна або верхньої третини гомілки, аналогічно почергово виконували тунелізацію кістки до місця введення спицею Кіршнера, порожнистим свердлом та троакаром для внутрішньокісткових маніпуляцій 8G.

Представимо приклад внутрішньокісткового введення мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку при асептичному некрозі латерального виростка стегнової кістки пацієнту Б. (№ історії хвороби 614628).

Введення проводили зі сторони здорової кістки, тобто в даному випадку зі сторони медіального виростку стегнової кістки. На рисунку 6.46 (а,б) представлено етап доступу та вибору напрямку створення внутрішньокісткового каналу за допомогою шила.

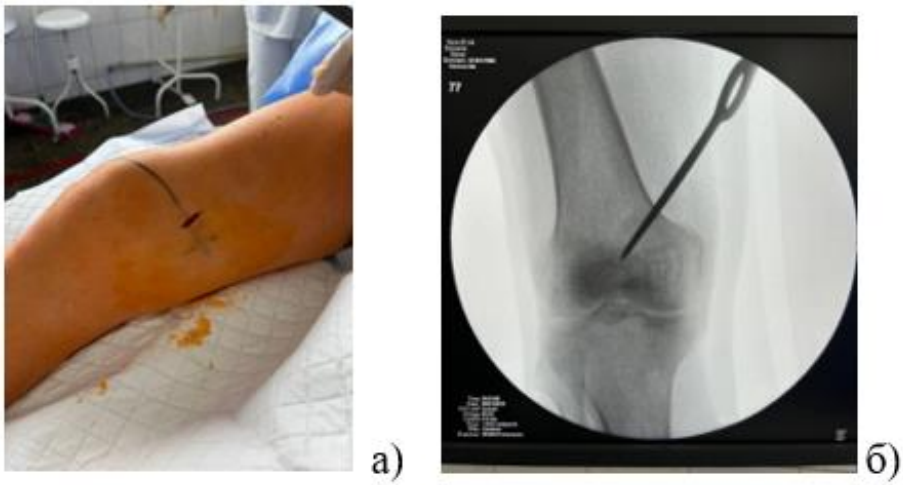


Рисунок 6.46 – Фото доступу (а) та проведення шила (б) для створення внутрішньокісткового каналу у пацієнта з асептичним некрозом латерального виростка стегнової кістки

В подальшому змінювали шило на навігаційну шпицю Кіршнера, яку проводили за допомогою канюльованого дрилю з використанням розробленого нами навігатора до місця введення біотехнологічного продукту. Контролювали проведення спиці за допомогою С-дуги в прямій та боковій проекціях (рис. 6.47 а, б).

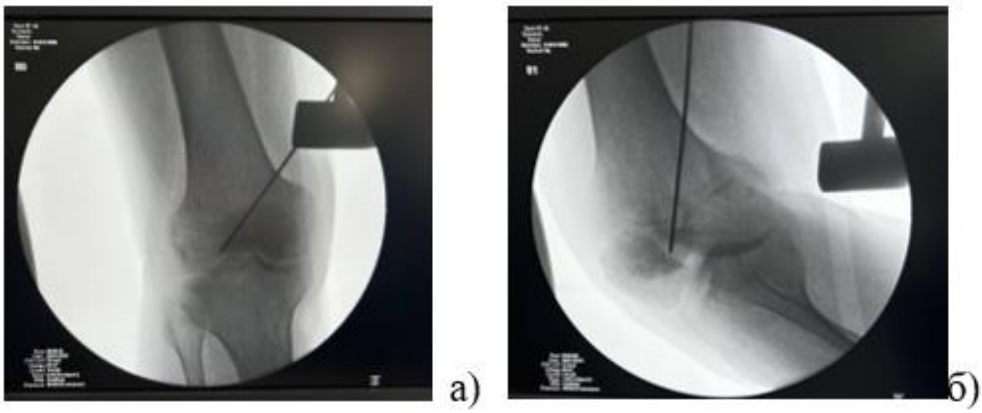
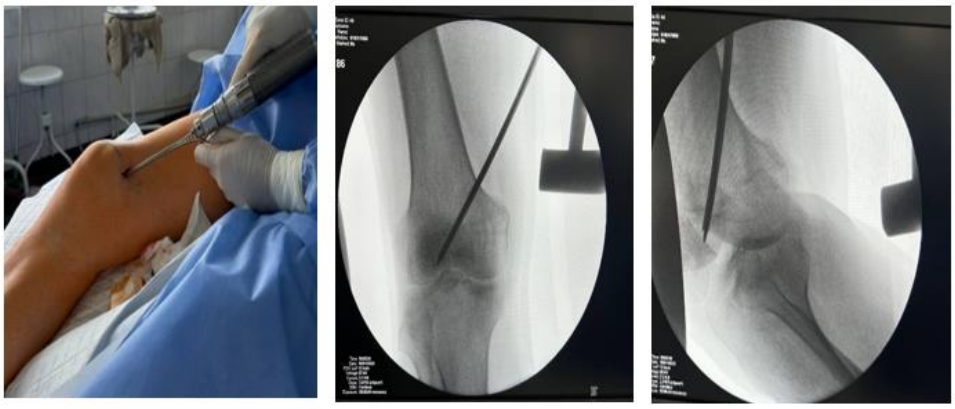


Рисунок 6.47 – Фото контролю проведення навігаційної шпиці Кіршнера в зону патологічного осередку латерального виростка стегнової кістки в прямій (а) та боковій (б) проекції

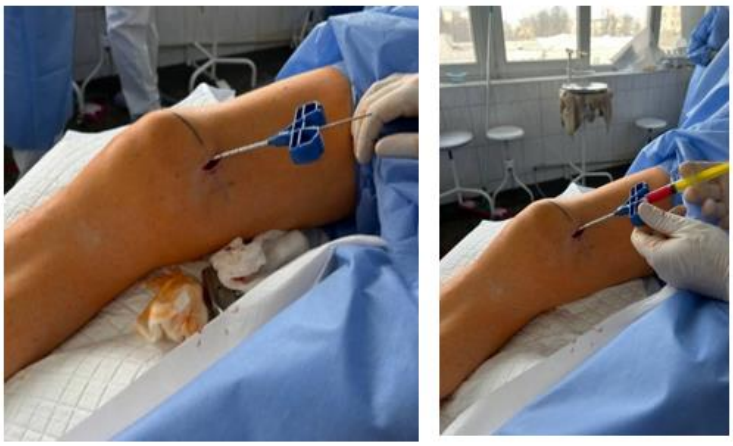
Наступним етапом розсвердлювали по шпиці внутрішньокістковий канал за допомогою канюльованого свердла діаметром 4.5 мм та контролювали введення за допомогою С-дуги в прямій та боковій проекціях (рис. 6.48 а-в).



а) б) в)

Рисунок 6.48 – Фото створення внутрішньокісткового каналу до зони асептичного некрозу латерального виростка стегнової кістки (а), контроль за допомогою С-дуги в прямій (б) та боковій (в) проекціях

Замінювали свердло на троакар для проведення внутрішньокісткових маніпуляцій розміром 8G, До троакара під'єднували 3-х компонентний шприц по типу Luer Lock з набраним біотехнологічним продуктом та виконували введення під контролем С-дуги (рис. 6.49 а, б).



а) б)

Рисунок 6.49 – Фото проведення троакару по навігаційній шпиці (а) та введення біотехнологічного продукту (б)

Після введення біотехнологічного продукту вводили через троакар 0,9% розчин натрію хлориду для досягнення потрапляння залишків біотехнологічного продукту зі стінок троакару в зону патологічного осередку головки стегнової кістки, а також фіксації біотехнологічного продукту в ньому.

Зареєстровано нову технологію «Спосіб лікування остеоартрозу та асептичного некрозу» (державний номер реєстрації 0624U000108), який передбачає внутрішньокісткове введення біотехнологічних продуктів.

6.4 Методологічні засади застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів

Досліджено скелетну зрілість та період статевого розвитку пацієнтів дитячого та підліткового віку, як біомаркери встановлення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій при захворюваннях кульшового та колінного суглобів [269], а також проведено клініко-генеалогічне та епігенетичне дослідження пацієнтів дитячого та підліткового віку для встановлення груп ризику розвитку та прогресування остеоартрозу на прикладі юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки [270].

6.4.1 Скелетна зрілість та період статевого розвитку, як біомеркери встановлення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів

Для оцінки результатів обстеження 286 пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій орієнтувалися на наступні критерії:

<u>Період статевого розвитку</u>

- препубертат;
- індукція пубертату;
- пубертат.

Наявність факторів ризику

- захворювання суглобів у спадковому анамнезі;
- системні захворювання у спадковому анамнезі;
- дисплазія сполучної тканини.

Визначення стану пацієнта та ступеня важкості перебігу захворювання за результатами анкетування та додаткових об'єктивних методів дослідження

- незадовільний стан (важкий ступінь перебігу) – 4 бали;
- задовільний стан (середній ступінь важкості) – 3 бали;
- добрий стан (легкий перебіг захворювання) – 2 бали;
- відмінний стан (прояви захворювання відсутні) – 1 бал.

Оцінка результатів опитування для власного опитувальника при патології кульшових суглобів проводилася наступним чином:

- < 60 балів – незадовільно;
- 60-69 балів – задовільно;
- 70-79 балів – добре;
- >80 балів – відмінно.

Оцінка результатів опитування для шкали Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score Child (KOOS-Child) проводилася згідно наступних формул для кожного блоку запитань:

- Біль: 100 – середній бал (P1–P10)×100 / 4 = Індекс больового синдрому;
- Симптоми: 100 – середній бал (S1–S5)×100 / 4 = Індекс симптомів;
- Функція, повсякдення життя: 100 – середній показник (A1–A17)×100 / 4 = Індекс функції та повсякденного життя
- Спортивні та розважальні заходи: 100 – середній бал (SP1−SP4)×100 / 4 = Індекс спортивного життя та розважальні заходи
- Якість життя: 100 – середній бал (Q1−Q4)×100 / 4 = Індекс якості життя

Послідовність оцінки результатів обстеження пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів з метою визначення показань до застосування регенеративних технологій є наступною (рис. 6.50):

Рис. 6.50 – Схема послідовності оцінки результатів обстеження пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів з метою визначення показань до застосування регенеративних технологій

Отримали такі результати: період препубертату встановили у 96 обстежених пацієнтів, період індукції пубертату – у 58 пацієнтів, період пубертату – у 132 пацієнтів. Регенеративний потенціал пацієнтів препубертату ми розцінювали, як добрий; пацієнтів у періоді індукції пубертату – як задовільний; пацієнтів у пубертатному періоді статевого розвитку – як обмежений.

Ми рекомендуємо застосування регенеративних технологій в пубертатному періоді статевого розвитку в усіх пацієнтів, в зв’язку зі зниженням власного регенеративного потенціалу.

В періоді індукції пубертату та препубертату для визначення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій, рекомендуємо

враховувати додаткові фактори ризику та показник якості життя згідно опитувальників.

В періоді індукції пубертату застосування регенеративних технологій рекомендуємо при наявності або одного з факторів ризику, або важкому чи середньої тяжкості перебігу захворювання.

В періоді препубертату застосування регенеративних технологій рекомендуємо при наявності одного з факторів ризику в поєднанні з важким чи середньої тяжкості перебігом захворювання.

Схему рекомендацій щодо застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку при захворюваннях кульшового та колінного суглобів можна представити наступним чином (рис. 6.51).

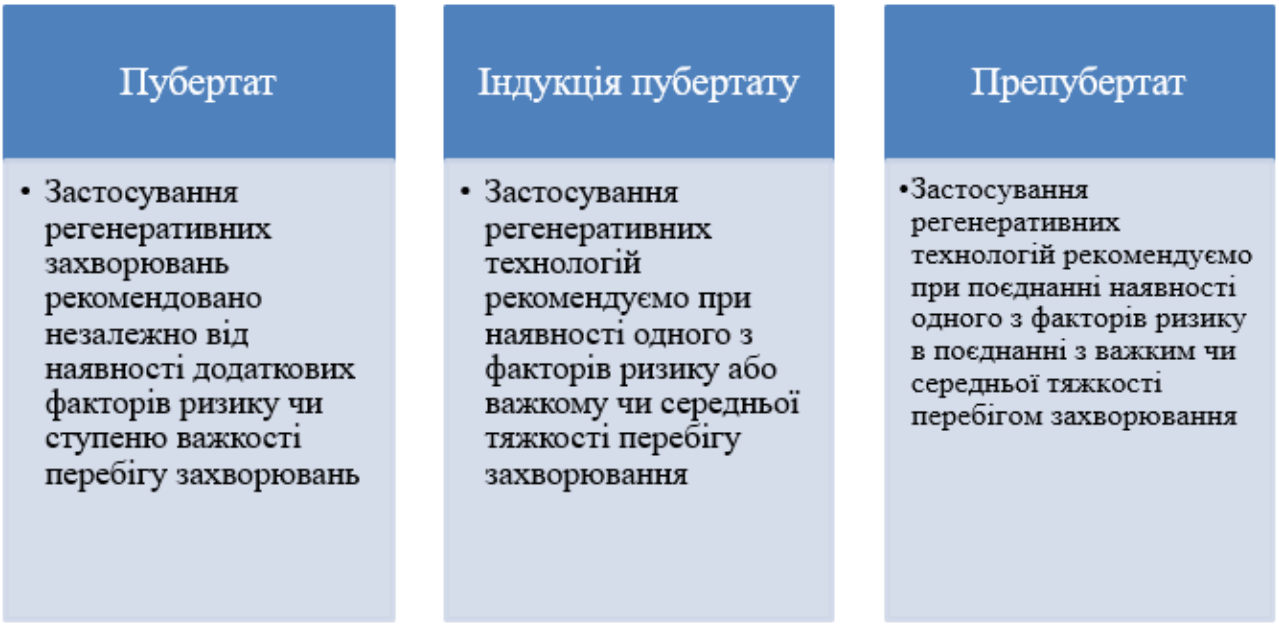


Рисунок 6.51 – Схема рекомендацій щодо застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку при захворюваннях кульшового та колінного суглобів

Диференційований підхід для визначення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій, використали у 46 пацієнтів та отримали такі результати (табл. 6.2):

Таблиця 6.2 – Результати обстеження пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів для визначення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій

Період статевого розвитку	Кількість пацієнтів	Фактори ризику/кількість пацієнтів		Стан пацієнта за ступенем важкості перебігу / кількість пацієнтів		Рекомендовано застосування регенеративних інтервенційних технологій / кількість пацієнтів	
Препубертат	16	Так	10	4 бали	2	Так	3
				3 бали	1		
				2 бали	5	Ні	7
				1 бал	2		
		Ні	6	4 бали	0	Ні	6
				3 бали	1		
				2 бали	4		
				1 бал	1		
Індукція пубертату	9	Так	3	4 бали	1	Так	3
				3 бали	1		
				2 бали	1	Ні	0
				1 бал	0		
		Ні	6	4 бали	0	Так	1
				3 бали	1		
				2 бали	3	Ні	5
				1 бал	2		
Пубертат	21	Так	15	4 бали	3	Так	21
				3 бали	8		
				2 бали	4		
				1 бал	0		
		Ні	6	4 бали	1	Ні	0
				3 бали	2		
				2 бали	2		
				1 бал	1		

Таким чином, за результатами аналізу застосування методології визначення скелетної зрілості, як біомаркера показань до регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів, встановили, що в препубертаті лише у 3 з 16

обстежених пацієнтів (що склало 19%) є показання до регенеративних інтервенційних технологій, в періоді індукції пубертату 4 з 9 обстежених пацієнтів (тобто майже 50%) мали відповідні показання. В періоді пуберату рекомендуємо застосування регенеративних інтервенційних технологій незалежно від наявності додаткових факторів ризику та стану пацієнта за ступенем важкості перебігу.

Раніше ми встановили значну роль скелетної зрілості, як біомаркера та прогностичного фактору для встановлення показань до тактики лікування таких захворювань, як юнацький епіфізеоліз головки стегнової кістки [271] та хвороба Блаунта [272-273], а також прогностичного фактору для виникнення та перебігу синдрому феморо-ацетабулярного конфлікту у дітей та підлітків [274-276] та спастичного зміщення стегна у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем [277].

Так, на основі алгоритму оцінки скелетної зрілості та визначення періоду статевого розвитку нами був розроблений власний підхід до лікування юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки [271], проведено аналіз оперативного лікування хвороби Блаунта [272], після чого встановлено показання та розроблено диференційований підхід до корекції варусної деформації у цих пацієнтів [273].

Не менш актуальним є значення скелетної зрілості, як біомаркера прогнозування виникнення та перебігу захворювань суглобів у дітей та підлітків. Так, нами був розроблений рентгенморфометричний показник – кут для оцінки та моніторингу ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу при юнацькому епіфізеолізі головки стегнової кістки [274], який в поєднанні з визначенням скелетної зрілості та періоду статевого розвитку у зазначених пацієнтів дає можливість оцінити регенеративний потенціал зони росту головки стегнової кістки та обрати той чи інший варіант лікування. Встановлення періоду статевого розвитку у пацієнтів дитячого та підліткового віку за алгоритмом оцінки скелетної зрілості дозволило нам розробити методику прогнозування виникнення та перебігу синдрому феморо-ацетабулярного

конфлікту у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки [275] та встановити фактори ризику зазначеного патологічного стану при хворобі Легг-Кальве-Пертеса [276]. Крім того, поєднання визначення таких біомаркерів, як скелетна зрілість та період статевого розвитку і рентгенморфометричних критеріїв дозволило нам розробити методику прогнозування спастичного зміщення стегнової кістки у пацієнтів дитячого та підліткового віку з дитячим церебральним паралічем [277]. Отримані нами результати свідчать про потужну роль скелетної зрілості, як біомаркера регенеративного потенціалу у дітей та підлітків, зокрема, при захворюваннях кульшового та колінного суглобів.

Слід зазначити, що на сьогоднішній день з'являються публікації, в яких проводиться аналіз відповідності механізмів старіння та зниження регенеративного потенціалу, зокрема кісткової тканини, та перспективах застосування регенеративних технологій залежно від віку [278]. Застосування регенеративних технологій при захворюваннях кульшового та колінного суглобів у дорослих пацієнтів вже є досить поширеним в клінічній практиці [7,10, 15-16, 244]. В той же час, підходи до використання зазначених методик у пацієнтів дитячого та підліткового віку наразі потребують додаткового вивчення. Сучасні дослідження та літературний аналіз вказують на актуальність застосування регенеративних технологій, як в педіатричній практиці загалом [279], так і при захворюваннях та травмах кісток та суглобового хряща у дітей та підлітків, зокрема [280].

6.4.2 Визначення епігенетичних та клініко-генеалогічних факторів ризику виникнення та прогресування остеоартрозу у дітей та підлітків

Проведено епігенетичне та клініко-генеалогічне дослідження біомаркерів ризику виникнення та прогресування остеоартрозу у дітей та підлітків на прикладі юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки [270].

Визначили експересію мікроРНК-21 у 26 пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки (таб. 6.3).

Таблиця 6.3 – Показники експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК

№ п/п	№ іст. хв.	Стать	Період статевого розвитку:	1-до оп.; 2-після оп.	Показник експресії мікроРНК-21
1	548620	ч	Преп.	1	0,068393
2	515825	ж	Пуб.	2	0,097396
3	543591	ч	Інд. пуб	1	0,125
4	546627	ч	Інд. пуб	1	0,135842
5	530229	ч	Преп.	2	0,150726
6	463229	ж	Пуб.	2	0,160428
7	548121	ж	Преп.	1	0,181747
8	534464	ч	Пуб.	1	0,210224
9	535877	ч	Пуб.	1	0,216134
10	554670	ч	Інд. пуб.	1	0,283221
11	545339	ж	Преп.	1	0,325335
12	544910	ж	Інд. пуб.	1	0,378929
13	548525	ж	Пуб.	2	0,384219
14	545040	ч	Інд. пуб.	2	0,386891
15	532128	ч	Інд. пуб.	2	0,444421
16	531002	ж	Пуб.	1	0,456916
17	547430	ж	Інд. пуб.	1	0,473029
18	543618	ч	Преп.	1	0,493116
19	547278	ж	Преп.	1	0,582367
20	549902	ж	Інд. пуб.	1	0,624165
21	550171	ж	Інд. пуб.	1	0,641713
22	538846	ж	Преп.	1	0,76843
23	358749	ж	Пуб.	2	0,790041
24	543909	ж	Інд. пуб.	1	1,283426
25	548936	ч	Інд. пуб.	2	1,536875
26	549874	ж	Інд. пуб.	1	11,15795

Згідно літературних даних [281], нормою експресії мікроРНК-21 у цільній крові здорових дітей віком до 16 років є показники від 0,01 до 0,1 ум. од (2^-dCt, нормалізовано до внутрішнього контролю RNU48). Середній показник становить 0,0393±0,0161 (рис. 6.52).

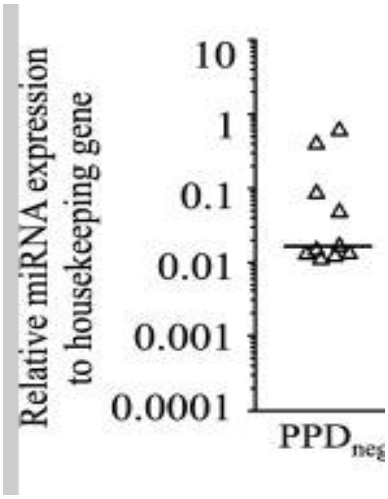


Рисунок 6.52 – Показники експресії мікроРНК-21 (2^-dCt) у периферичній крові здорових дітей віком до 16 років (PPD) [282]

Провели статистичну обробку отриманих даних епігенетичного дослідження експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки в програмі Microsoft Excel та отримали наступні результати – загалом в групі рівень експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК склав від 0,06 до 11,15 ум. од. (рис. 6.53):

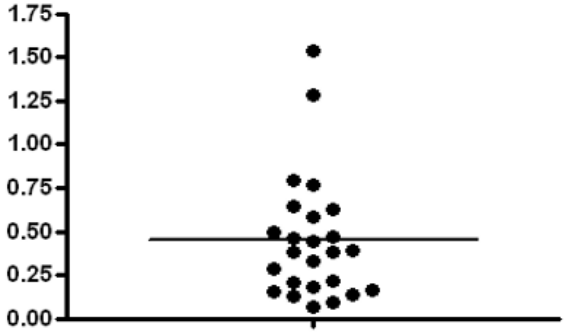


Рисунок 6.53 – Показники експресії мікроРНК-21 (2^-dCt) у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки

Таким чином, статистична характеристика вибірки виглядає наступним чином (таб. 6.4).

Таблиця 6.4 – Статистична характеристика вибірки пацієнтів з ЮЕГСК, у якій визначалася експресія мікроРНК-21

Загальна кількість значень	26
Мінімум	0,068393
25% персентиль (1 квартиль)	0,171087
медіана	0,385555
75% персентиль (4 квартиль)	0,632939
Максимум	11,15795
Середнє значення	0,859882
Стандартне відхилення	2,129419
Стандартна похибка	0,417613
p	0,04062

Враховуючи отримані дані, показники експресії мікроРНК-21 в цільній крові у пацієнтів з юнацьким епіфізіолізом головки стегнової кістки є відмінними від таких у здорових донорів аналогічного вікового діапазону ($p < 0,05$).

Провели аналіз залежності показників експресії мікроРНК-21 від періоду статевого розвитку (використовували Kruskal-Wallis test) та виявили статистичні відмінності зазначених показників залежно від групи у даній вибірці ($p = 0,03017$, $p < 0,05$) (рис. 6.54):

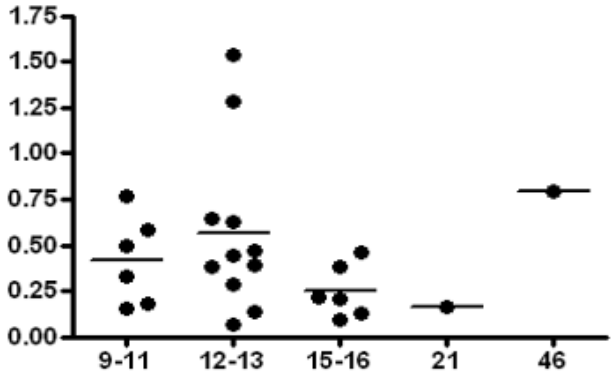


Рисунок 6.54 – Показники експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК залежно від віку та періоду статевого розвитку

На діаграмі, на якій представлено рівень експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК залежно від періоду статевого розвитку (рис. 6.55), періоду препубертату відповідає група пацієнтів віком 9–11 років, періоду індукції пубертату – група пацієнтів віком 12-13 років, періоду пубертату та постпубертату – пацієнти віком від 15 років.

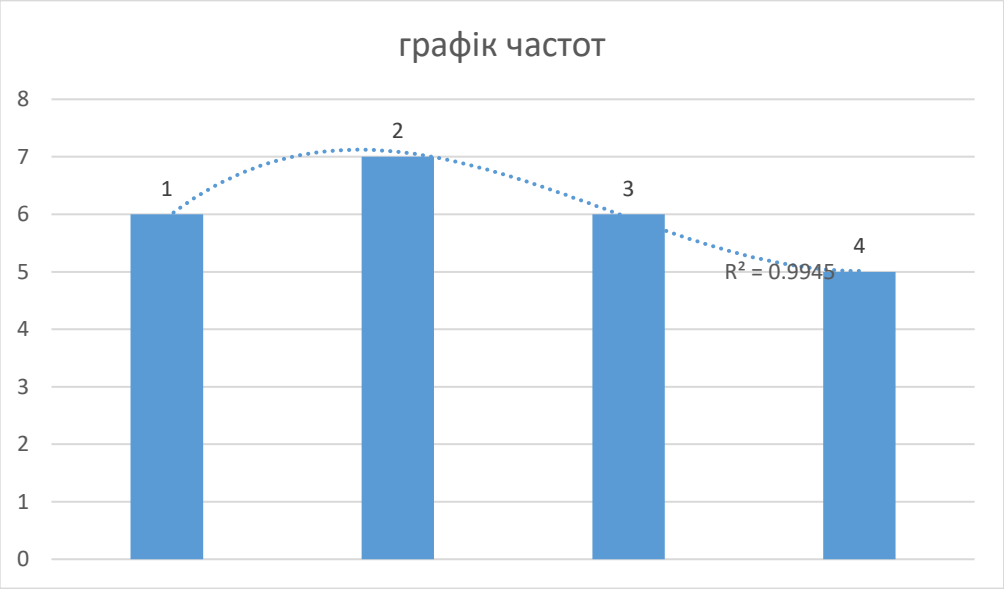


Рисунок 6.55 – Показники рівня експресії мікроРНК-21 залежно від періоду статевого розвитку: 1 – препубертат, 2 – індукція пубертату, 3 – пубертат, 4 – постпубертат

Як бачимо, з отриманих статистичних даних, представлених у вигляді діаграм, найвищі показники експресії мікроРНК-21 відмічаються у пацієнтів періоду індукції пубертату, тобто періоду, коли частота виникнення ЮЕГСК є найвищою. Експресія мікроРНК у період препубертату та пубертату має практично однакові показники. Надалі, в постпубертаті, показники експресії мікроРНК-21 у пацієнтів, які перенесли ЮЕГСК, знижуються.

Провели аналіз залежності показників експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК залежно від статі та не встановили достовірних статистичних відмінностей зазначених показників у даній вибірці ($p = 0{,}2766$, тобто $p > 0{,}05$) (рис. 6.56):

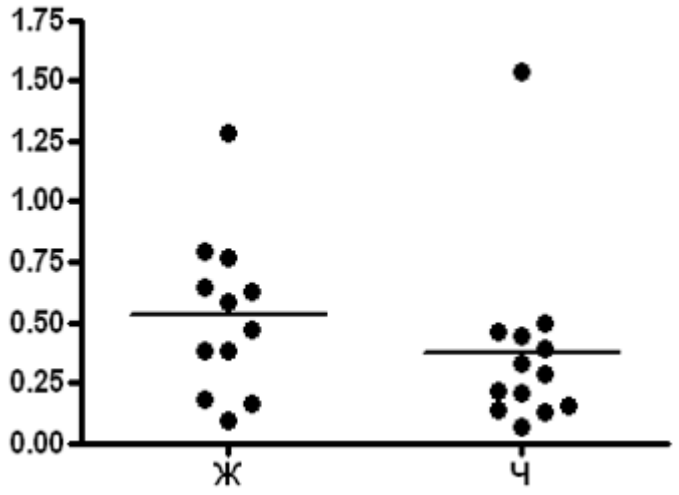


Рисунок 6.56 – Показники рівня експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК залежно від статі

Як бачимо з отриманих результатів, рівень експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки не залежав від їх статі у нашому дослідженні.

Провели аналіз залежності показників експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки, які перебували в до- та післяопераційному періоду та не становили достовірних відмінностей у даній вибірці (p = 0,7725, тобто p > 0,05) (рисунок 6.57):

Рисунок 6.57 – Показники рівня експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК до та після оперативного лікування

Таким чином, рівень експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки не залежав від часу проведеного дослідження, тобто до чи після оперативного лікування.

Отже, згідно отриманих результатів епігенетичного дослідження експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК та проведеного статистичного аналізу, встановили статистично значиму відмінність рівня його показників ($p<0,05$) у цій вибірці порівняно зі здоровими пацієнтами аналогічного вікового діапазону. Провели аналіз залежності показників експресії мікроРНК-21 від періоду статевого розвитку у пацієнтів з ЮЕГСК та виявили статистичні відмінності зазначених показників залежно від групи у зазначеній вибірці ($p<0,05$). Не встановили залежності рівня показників експресії мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК від статі та періоду до чи після оперативного лікування ($p>0,05$). Наступним етапом нашої роботи став аналіз результатів клініко-генеалогічного дослідження пацієнтів з ЮЕГСК. Отримали наступні результати (таб. 6.5).

Таблиця 6.5 – Результати клініко-генеалогічного дослідження пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки.

№ п/п	№ іст. хв.	Стать	Наявність остеоартрозу у близьких родичів	Наявність дисплазії сполучної тканини у вигляді синдрому гіпермобільності суглобів у близьких родичів
1	548620	ч	+	+
2	515825	ж	+	+
3	543591	ч	-	-
4	546627	ч	+	+
5	530229	ч	+	+
6	463229	ж	+	+
7	548121	ж	-	-

Продовження табл. 6.5				
8	534464	ч	-	-
9	535877	ч	-	-
10	554670	ч	-	+
11	545339	ж	+	+
12	544910	ж	-	-
13	548525	ж	-	-
14	545040	ч	+	+
15	532128	ч	-	+
16	531002	ж	-	-
17	547430	ж	+	+
18	543618	ч	-	+
19	547278	ж	-	-
20	549902	ж	-	-
21	550171	ж	+	+
22	538846	ж	+	+
23	358749	ж	+	+
24	543909	ж	+	+
25	548936	ч	+	+
26	549874	ж	-	-

Таким чином, як бачимо з отриманих даних клініко-генеалогічного дослідження хворих з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки, у 16 пацієнтів з 26 прослідковується зв'язок ЮЕГСК з наявністю спадкових факторів у близьких родичів (наявність остеоартрозу згідно даних опитувальника відмітили у близьких родичів 13 пацієнтів з ЮЕГСК, дисплазії сполучної тканини у вигляді синдрому гіпермобільності суглобів – у 16 пацієнтів).

Провели статистичний аналіз даної залежності у аналізованій нами вибірці (використовували критерій Пірсона) та отримали наступні результати (рис. 6.58):

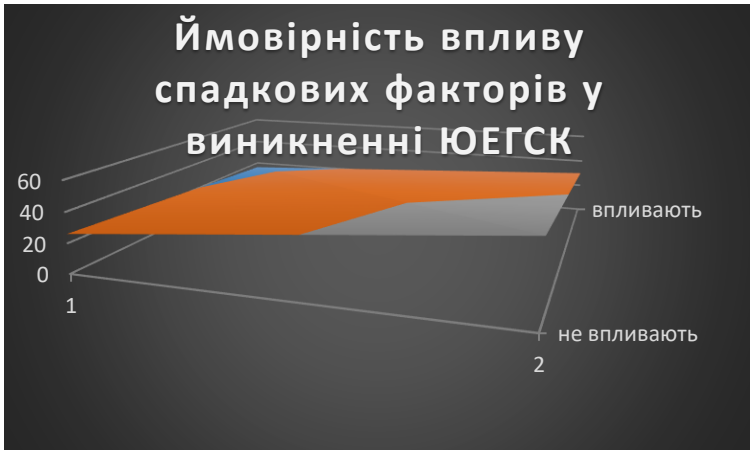


Рисунок 6.58 – Діаграма ймовірності впливу спадкових факторів (наявність остеоартрозу та дисплазії сполучної тканини у близьких родичів) на виникнення ЮЕГСК

Отже, отримані дані щодо ймовірності впливу спадкових факторів на виникнення ЮЕГСК є статистично значимими ($p<0,05$).

Ймовірність такої залежності складає від 40 до 90 відсотків та може бути більш достовірно уточнена при збільшені вибірки (рис. 6.59).

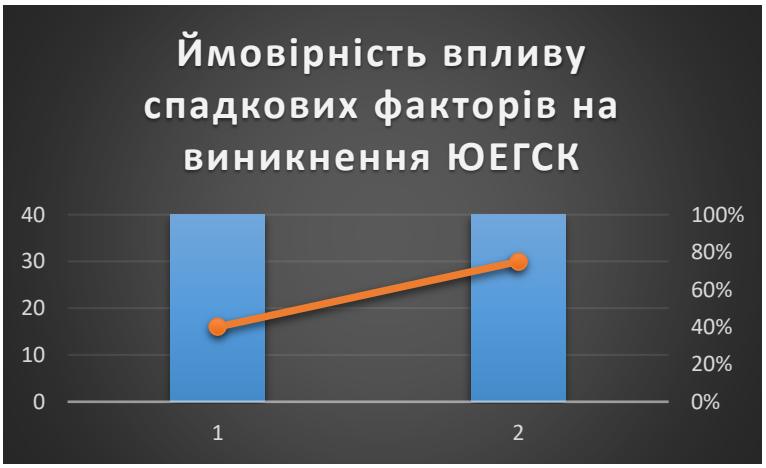


Рисунок 6.59 – Діаграма ймовірності впливу спадкових факторів на виникнення ЮЕГСК у відсотковому значенні

Таким чином, підсумовуючи дані отриманих нами результатів епігенетичного та клініко-генеалогічного дослідження пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки слід відмітити високу ймовірність впливу спадкових та епігенетичних факторів на виникнення та перебіг даного захворювання та виникнення остеоартрозу кульшового суглоба в подальшому. Зокрема, щодо результатів епігенетичного дослідження, варто констатувати, що мікроРНК-21 є перспективним інноваційним біомаркером для моніторингу розвитку та перебігу ЮЕГСК та остеоартрозу.

Обраний нами напрямок дослідження є актуальним та досить перспективним з огляду на мультифакторність етіології ЮЕГСК та остеоартрозу та беззаперечно надасть змогу отримати нові знання про патогенез досліджуваних захворювань.

Таким чином, методологія визначення біомаркерів у пацієнтів з захворюваннями кульшового та колінного суглобів з метою подальшої розробки системи прогнозування виникнення та перебігу остеоартрозу включає наступні напрямки (рис. 6.60):

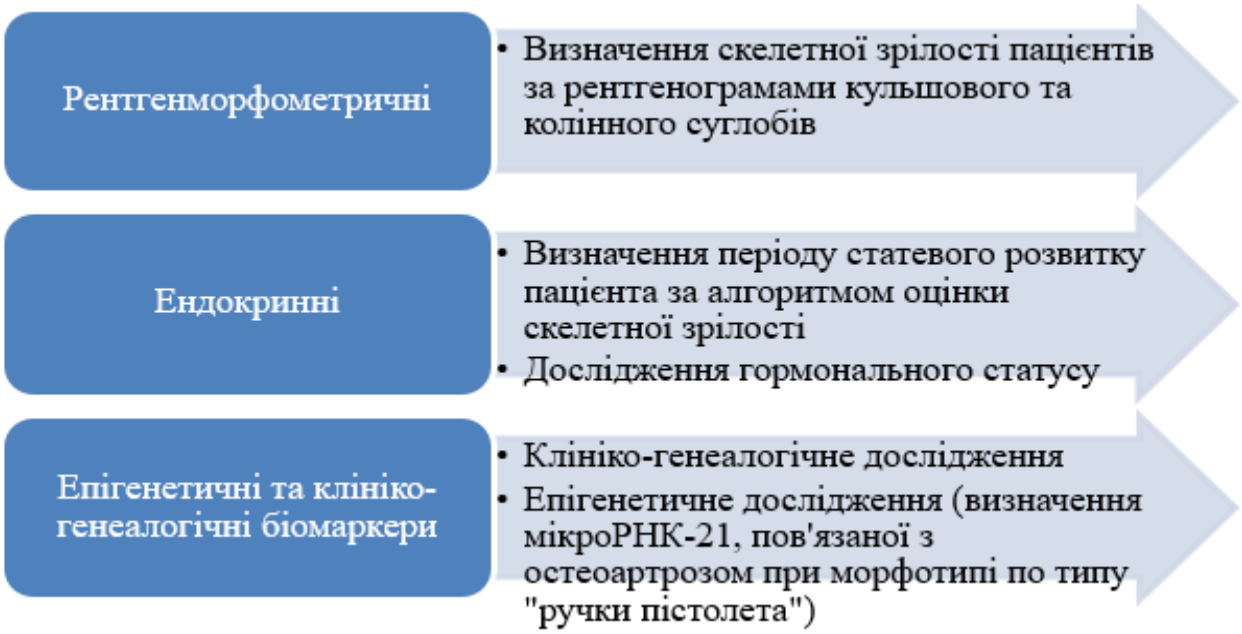


Рисунок 6.60 – Схема методології оцінки біомаркерів у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів для прогнозування виникнення та перебігу остеоартрозу

Проаналізувавши результати оцінки біомаркерів у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів констатуємо наступне:

- найбільш критичним для виникнення остеоартрозу в подальшому є розвиток цих захворювань в періоді індукції пубертату, оскільки з отриманих нами даних саме в цьому періоді найчастіше відбувається достовірна зміна рівня ендокринних, рентгенморфометричних та епігенетичних біомаркерів;
- найбільш прогностично сприятливим є виникнення зазначених захворювань в період препубертату, оскільки за результатами оцінки визначених нами біомаркерів в цей період спостерігаються оптимальні умови для ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу, а отже, ризик ускладень у вигляді подальшого розвитку остеоартрозу є мінімальним;
- в періоді пубертату, згідно оцінки результатів аналізу визначених нами біомаркерів, спостерігаємо високий ризик розвитку остеоартрозу в подальшому, в зв'язку з обмеженими можливостями ремоделяції.

Враховуючи вищезазначене, застосування регенративних інтервенційних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку задля оптимізації та покращення регенеративного потенціалу є доцільним вже починаючи з періоду індукції пубертату.

РОЗДІЛ 7
АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ ЛІКУВАННЯ, ПЕРСОНАЛІЗОВАНИЙ ПІДХІД ДО ЗАСТОСУВАННЯ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ІНТЕРВЕНЦІЙНИХ ТЕХНОЛОГІЙ У ПАЦІЄНТІВ З ОСТЕОАРТРОЗОМ ТА АСЕПТИЧНИМ НЕКРОЗОМ КУЛЬШОВОГО ТА КОЛІННОГО СУГЛОБІВ

7.1 Результати клінічного застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів на прикладі ін'єкційних аутологічних концентратів периферичної крові

У першій групі дослідження [282] у пацієнтів, яким виконували внутрішньосуглобові ін’єкції гіалуронової кислоти, встановили наступні клінічні ефекти - в перші 3 доби пацієнти скаржилися на відчуття дискомфорту в суглобі після першої ін’єкції. Далі до 3-го місяця відмічали покращення функціонального стану та зменшення больового синдрому. Найбільш виражений ефект спостерігався на 3-й місяць після останнього введення препарату, але майже в усіх пацієнтів на 6-й місяць спостереження больові відчуття відновлювались, відмічалося зниження показників якості життя. Статистичні дані опитувальників продемонстровано на зведених графічних рисунках (рис. 7.1–7.3).

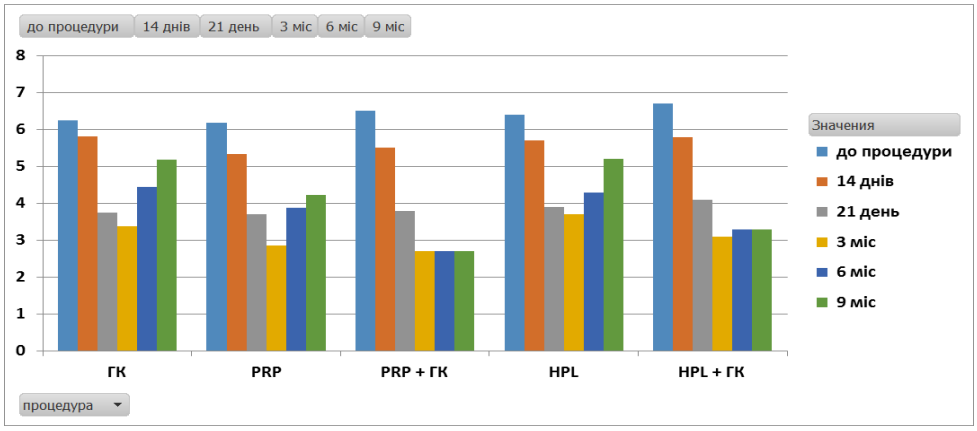


Рисунок 7.1 – Динаміка результатів за ВАШ залежно від методу лікування (avg, n = 80), ($p < 0,001$)

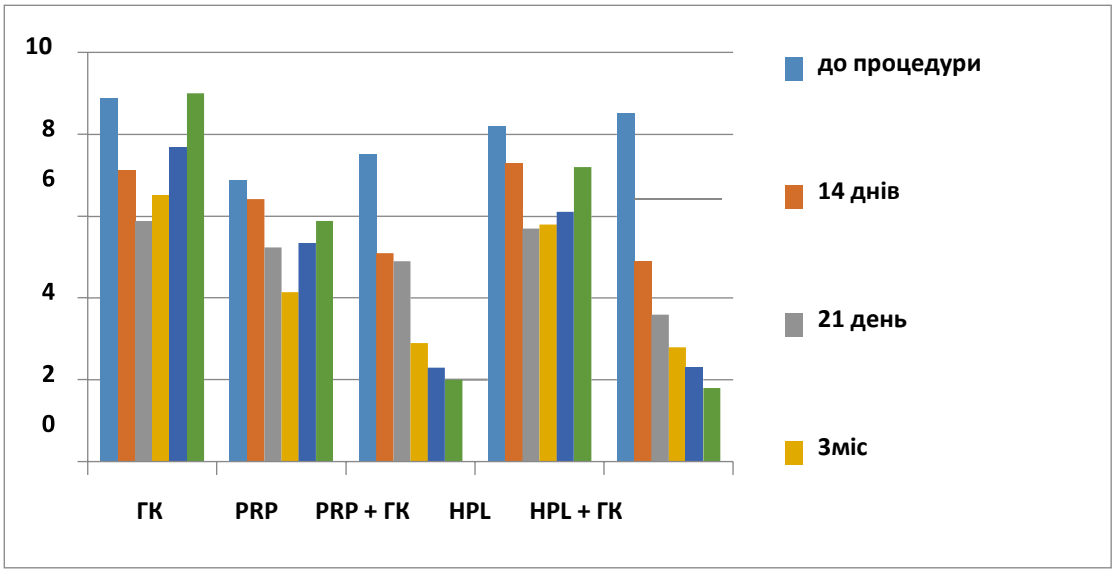


Рисунок 7.2 – Динаміка результатів за WOMAC залежно від методу лікування (avg, n = 80), (p < 0,001)

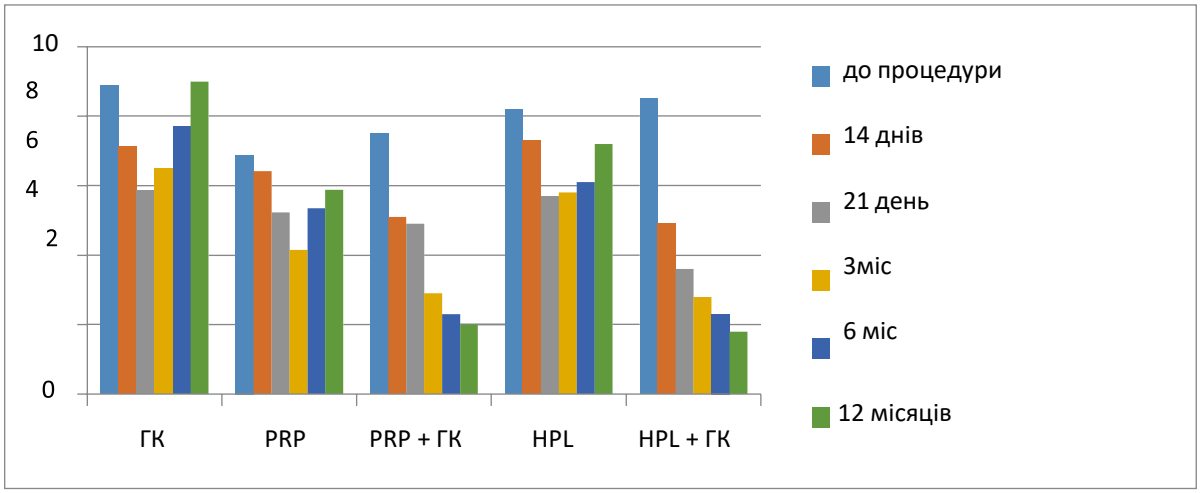


Рисунок 7.3 – Динаміка результатів за індексом Лекена залежно від методу лікування (avg, n = 80), (p < 0,001)

Пацієнтам, яким застосовували ЗТП-терапію (PRP), в більшості випадків через 4 дні після останньої ін’єкції спостерігався ефект поступового зменшення больового синдрому, збільшення амплітуди рухів. На етапі місячного анкетування відмічався стійкий ефект покращення якості життя. На рис. 7.1 та 7.2 продемонстровано, що після 3-х місяців після заключної ін’єкції

відбувалося збільшення інтенсивності больового синдрому за шкалою ВАШ. В усіх досліджуваних пацієнтів цієї групи спостерігали збільшення набряку та больового синдрому протягом 2–3-х днів після кожної з 3-х ін'єкцій, та всі вони відмічали покращення якості життя за даними опитувальників, протягом усіх 9 місяців спостереження (див. рис. 7.1–7.3).

Пацієнти, яким проводили лікування шляхом комбінування препарату ЗТП з гіалуроновою кислотою (PRP+ГК) з низькою молекулярною масою (600–750 кДа), використовуючи останню, як скаффолд (носій). При застосуванні ЗТП-терапії з гіалуроновою кислотою відмічали аналогічний ефект на початку лікування, окрім інтенсивного больового синдрому на 2-3-й день після введення. В той же час, відмічали більш довготривалий стійкий позитивний ефект у вигляді відсутності больового синдрому (рис. 7.1-7.3).

Пацієнти, яким проводилося лікування аутологічним кріолізатом тромбоцитів (АКТ), відмічали значний набряк та різке збільшення больового синдрому в перші три доби після введення препарату. Лише у одного пацієнта з цієї групи було досягнуто позитивного клінічного та діагностичного ефекту у вигляді ремісії больового синдрому на всіх етапах спостереження (див. рис. 7.1–7.3).

У пацієнтів, яким застосовувалась АКТ-терапія в комбінації з гіалуроновою кислотою (HPL+ГК) низької молекулярної маси (600–750 кДа), не виявляли посилення больового синдрому після проведення ін'єкцій. Відмічали досягнення стійкого позитивного клінічного результату вже після 3-го анкетування. У трьох пацієнтів відмічали незначний набряк після першої ін'єкції, який проходив на 2-3-й день (див. рис. 7.1–7.3).

Таким чином, проведений нами аналіз консервативного лікування за допомогою різних варіантів регенеративних ін'єкційних технік продемонстрував покращення якості життя пацієнтів в перший рік після лікування при введенні гіалуронової кислоти – на 10,1%, при введенні ЗТП – на 23,2%, при введенні ЗТП та гіалуронової кислоти – на 65,9%, при введенні АКТ – на 15,6%, при введенні АКТ з гіалуроновою кислотою – на 60,3% порівняно зі

станом до початку лікування.

У пацієнтів другої групи дослідження [283], незалежно від стадії захворювання, при застосуванні Л-ЗТП (LR-PRP) у 80% пацієнтів відмічали загострення больових відчуттів, що супроводжувались набряком та обмеженням функції суглоба, протягом 2–4 діб після першого введення. При цьому індекс ВАШ зростав на 45% (60,9 ± 11,1 мм) порівняно з вихідним рівнем ($p \leq 0,05$). Після застосування МЛ-ЗТП (LP-PRP) подібна симптоматика відслідковувалась лише у 50% пацієнтів, елевація ВАШ не перевищувала 15% порівняно (48,2 ± 11 мм ВАШ) з початковим значенням.

Оцінка отриманих результатів у пацієнтів з гонартрозом 1-ї стадії. Впродовж першого місяця зменшення больових відчуттів та збільшення функціональної здатності колінного суглоба мало позитивну динаміку у пацієнтів обох груп. У пацієнтів першої групи із введенням Л-ЗТП середні показники індексу болю за ВАШ до початку лікування складали 34,0 ± 3,8 мм, у пацієнтів другої групи – 35 ± 6,3 мм (рис. 7.4). Через місяць інтенсивність больового синдрому зменшилась до 22,8 ± 6,2 мм у першій та до 27,3 ± 4,3 у другій групі.

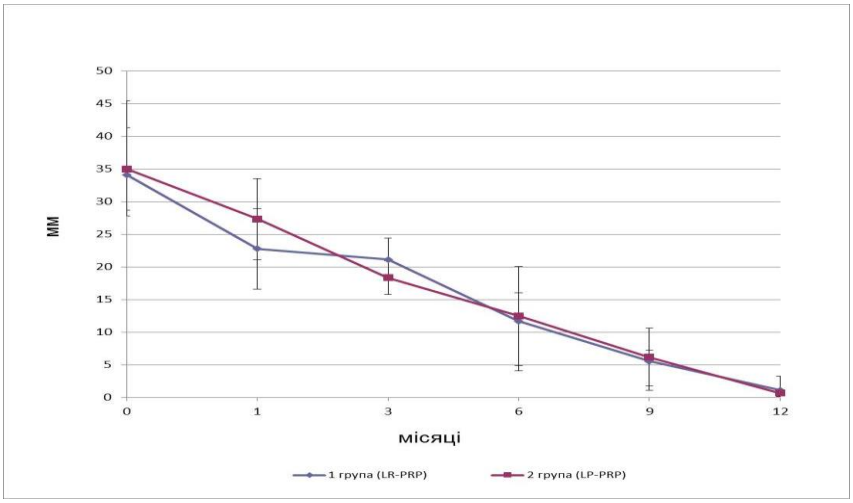


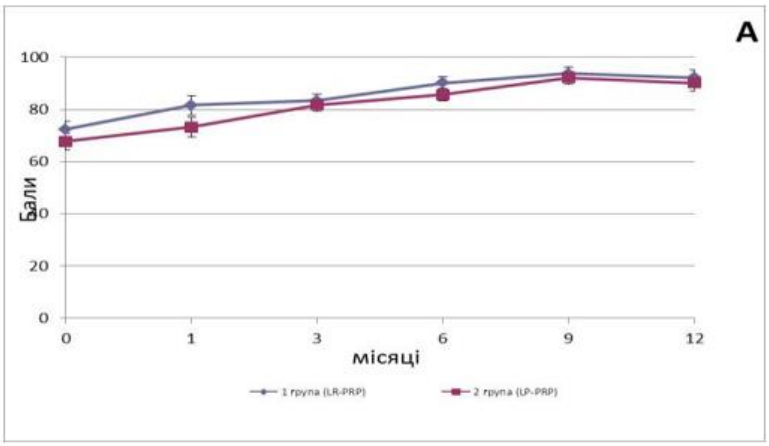
Рисунок 7.4 – Динаміка індексу болю за ВАШ протягом року у досліджуваних пацієнтів 1-ї (n = 9) та 2-ї (n = 6) групи з гонартрозом 1-ї стадії; M ± m

В обох групах відзначали подальший регрес больових відчуттів за ВАШ, однак в період з 1-го по 3-й місяць від початку лікування у першій групі спостерігалось своєрідне "плато" – сповільнення динаміки. В подальшому у пацієнтів обох груп відзначали зниження інтенсивності болю, через 6 місяців показники за ВАШ складали 11,7 ± 4,3мм у першій та 12,5 ± 7,6 мм у другій групі. Через 12 місяців показник болю за ВАШ знизився до 1,1 ± 2,2 мм у першій групі та 0,7 ± 0,5 мм у другій групі (див. рис. 7.4). Не відмічалось різниці за показниками ВАШ при порівнянні в лікуванні препаратами Л-ЗТП та МЛ-ЗТП у пацієнтів з обох груп протягом 12 місяців.

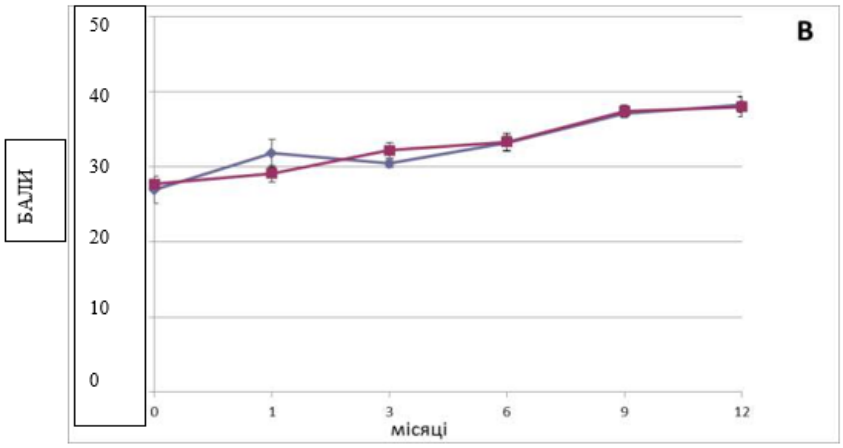
Середні показники функціональної здатності колінного суглоба на початку лікування за шкалою Lysholm складали 72,4 ± 2,1 бали для пацієнтів першої групи та 67,8 ± 3,2 балів для другої (рис. 7.5 а, б). Протягом першого місяця від початку лікування показники за Lysholm у хворих після застосування Л-ЗТП зросли до 81,6 ± 4,3 балів, а після застосування МЛ-ЗТП до 73,3 ± 3,8 балів. Позитивна динаміка в обох групах зберігалась протягом усього періоду спостереження: через 9 місяців середні показники складали 93,9 ± 2,4 бали, через 12 місяців – 92,2 ± 1,7 бали у першій групі, 92,2 ± 2,4 і 90,2 ± 2,9 балів через 9 і 12 місяців відповідно у другій групі пацієнтів.

Середні показники функціональної здатності колінного суглоба на початку лікування за шкалою Oxford складали відповідно 27,5 ± 4,8 для групи першої та 26,8 ± 5,2 балів для другої групи. При оцінці функції суглоба за шкалою Oxford через 3 місяці від початку лікування середні показники складали 32,1± 2,3 балів після застосування Л-ЗТП та 30,7± 5,1 балів після МЛ-ЗТП.

.



а)



б)

Рисунок 7.5 – Динаміка показників функціональної здатності колінного суглоба за Lysholm (а) та Oxford (б) у досліджуваних пацієнтів 1-ї (n = 9) та 2-ї (n = 6) групи з гонартрозом 1-ї стадії; M ± m

Через 6 місяців у пацієнтів першої групи показники становили 34,1± 5,2 балів з подальшим зростанням до 38,2± 6,4 та 39,6± 8,3 балів через 9 та 12 місяців. У пацієнтів другої групи показники функції колінного суглоба складали 34,3± 5,2 через 6 місяців, 38,5± 7,2 та 38,8± 7,7 балів через 9 і 12 місяців відповідно.

Виявлено високу негативну кореляцію за критерієм Пірсона між показниками ВАШ та оцінкою функціональної здатності колінного суглоба за Lysholm (рис. 7.6 а, б) та Oxford (рис. 7.7 а, б) у пацієнтів з 1 стадією захворювання у з обох досліджених груп. Отже, можна зробити висновок, що

зниження показників ВАШ супроводжувалось підвищенням функціональної здатності колінного суглоба.

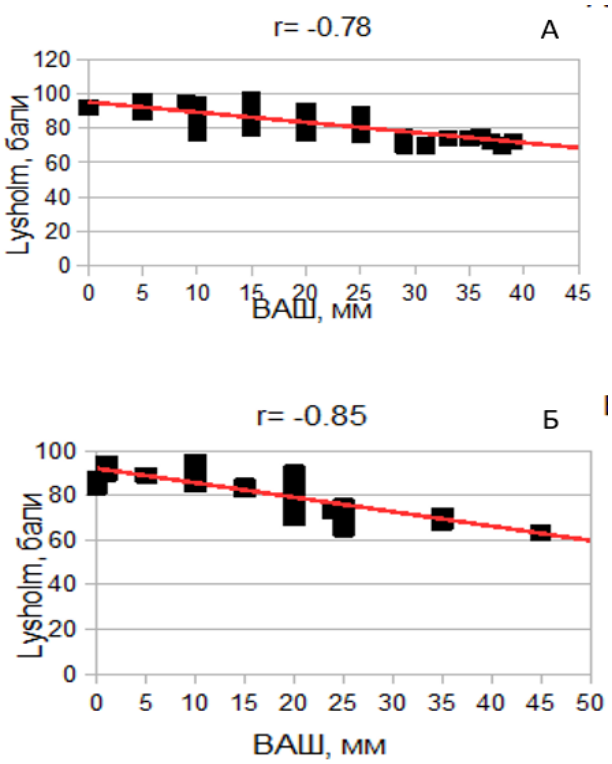
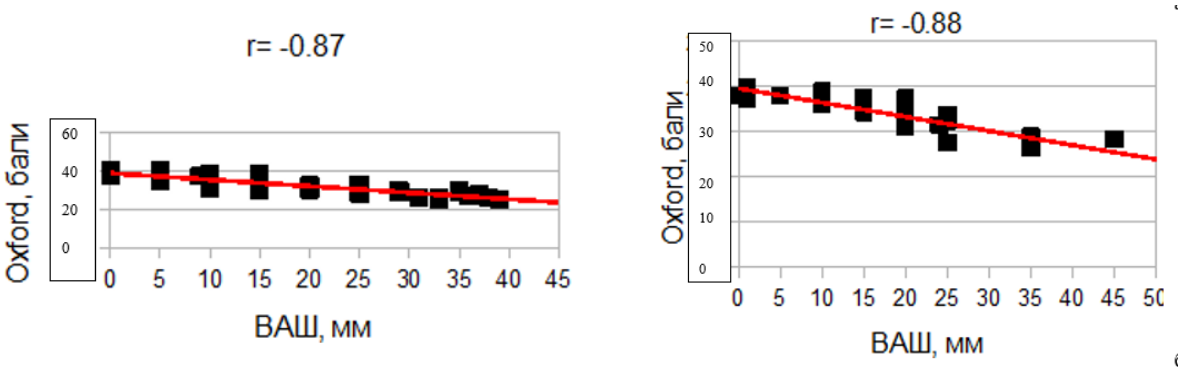


Рисунок 7.6 – Кореляція за критерієм Пірсона між шкалами ВАШ та Lysholm у досліджуваних пацієнтів 1 (а) та 2 (б) групи з гонартрозом 1-ї стадії



а) б)

Рисунок 7.7 – Кореляція за критерієм Пірсона між шкалами ВАШ та Oxford у досліджуваних пацієнтів 1 (а) та 2 (б) групи з гонартрозом 1-ї стадії

Оцінка отриманих результатів у пацієнтів з гонартрозом 2 стадії. У пацієнтів першої групи впродовж місяця відмічалось зменшення больових відчуттів за шкалою ВАШ до середнього значення 25,5± 9,3 мм (початкове значення 44,5 ± 11,2 мм) та до 29,4± 9,1 мм (початкове значення 42,5 ± 12,2 мм) у пацієнтів другої групи (рис. 7.8).

У обох групах зменшення болю за ВАШ зберігалось до 12 місяців від початку лікування, однак в період з 1-го по 3-й місяць у пацієнтів першої групи, як і при гонартрозі 1-ї стадії, спостерігалось "плато" – сповільнення динаміки до трьох місяців від початку лікування. В подальшому у пацієнтів обох груп відзначали зниження інтенсивності болю до 12 ± 2,6 мм і 12,5 ± 5,3 мм у першій та 13,1 ± 0,5 мм і 15 ± 0,5 у другій групі через 9 та 12 місяців відповідно ($p \leq 0,05$). У пацієнтів з обох груп не відмічалось достовірної різниці за показниками ВАШ (рис. 7.8) при порівнянні в лікуванні Л-ЗТП та МЛ-ЗТП протягом 12 місяців ($p \geq 0,05$).

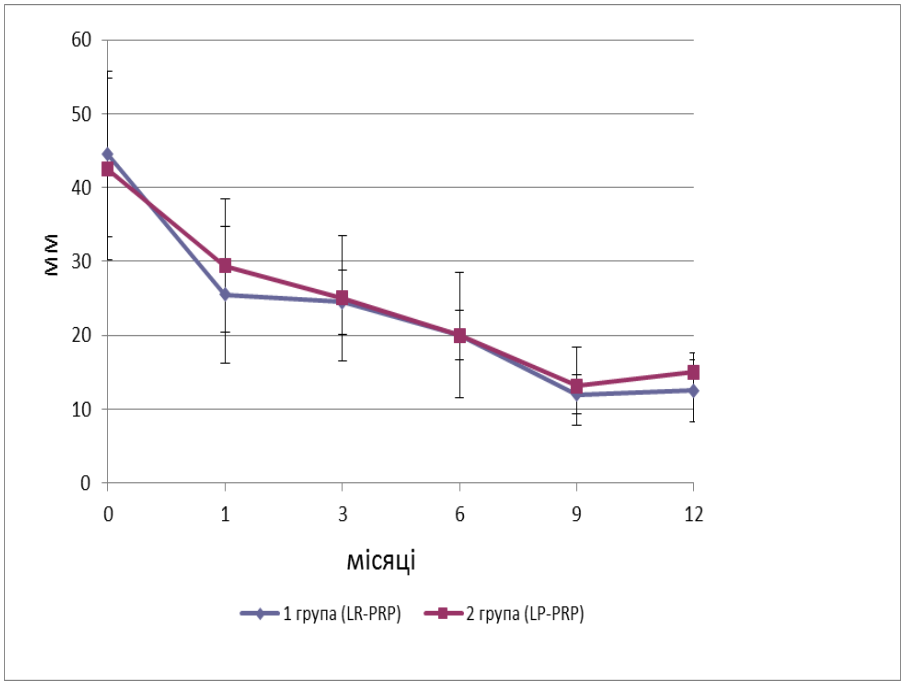
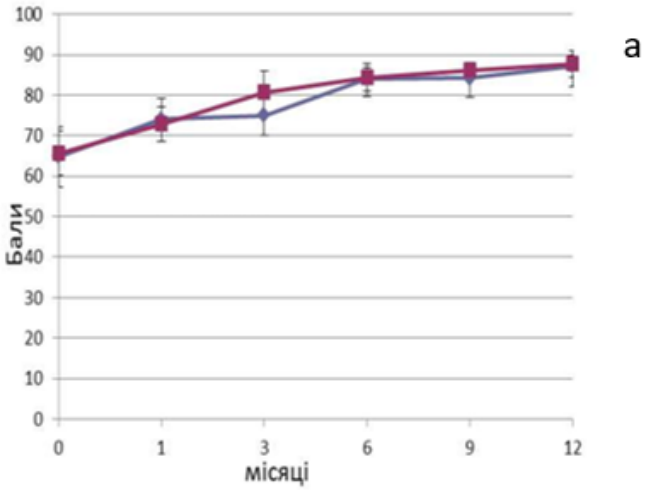
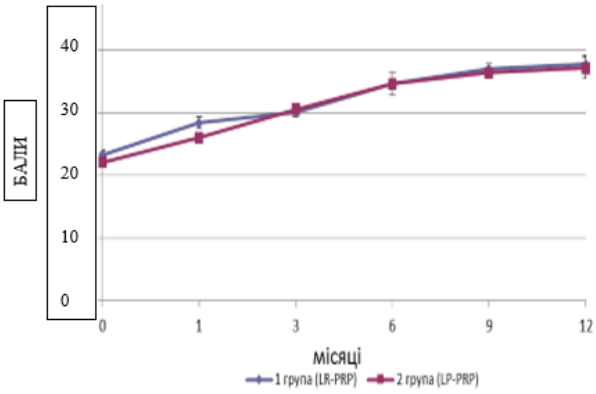


Рисунок 7.8 – Динаміка ВАШ у досліджуваних пацієнтів 1-ї (n = 10) та 2-ї (n = 8) групи з гонартрозом 2-ї стадії; M ± m

На початку лікування середні показники функціональної здатності у пацієнтів з артрозом колінного суглоба 2-ї стадії за шкалою Lysholm оцінених 64,8 ± 7,4 балів для першої та 65,6 ± 5,6 балів для другої групи. За шкалою Oxford показники складали 22,4± 3,9 та 23,8± 3,9 балів відповідно (рис. 7.9 а,б).



а)



б)

Рисунок 7.9 – Динаміка показників функціональної здатності колінного суглоба за шкалами Lysholm (а) та Oxford (б) у досліджуваних пацієнтів 1-ї (n = 10) та 2-ї (n = 8) групи з гонартрозом 2-ї стадії; M ± m

Протягом першого місяця від початку лікування показники за Lysholm у першій групі зросли до 74,1 ± 5,1, у другій – до 73,3 ± 4,3 балів. В подальшому протягом 3-х місяців у першій групі відмічалось сповільнення динаміки (75 ± 3,5 балів), з подальшим зростанням показників до 84,1 ± 2,5 через 6 місяців та

87,3 ± 2,5 через 12 місяців від початку лікування ($p \leq 0,05$). У другій групі збільшення функціональної здатності суглобів носило більш плавний і рівномірний характер – 80,8 ± 5,1 балів через 3 місяці, 84,4 ± 3,3 через 6 місяців та 87,8 ± 3,3 балів через рік від початку лікування ($p \leq 0,05$). У пацієнтів з обох груп не відмічалось різниці у покращенні функціональної здатності суглоба за показниками шкали Lysholm (рис. 7.9 а) при порівнянні лікування препаратами Л-ЗТП та МЛ-ЗТП протягом 12 місяців ($p \geq 0,05$).

Протягом першого місяця від початку лікування показники за шкалою Oxford у першій групі зросли до 26,9 ± 4,8, у другій – до 28,5 ± 4,1 балів (рис. 7.9 б). Через 3 місяці від початку лікування середні показники складали 30,5 ± 8,6 балів у пацієнтів першої групи та 30,8 ± 8,7 балів у другій групі. Як і у випадку із оцінкою за Lysholm, у період до 3-х місяців відмічалось уповільнення динаміки показників у першій групі. Через 6 місяців у першій групі середні показники за Oxford складали 35,2 ± 6,6 балів з подальшим зростанням до 37,2 ± 7,1 та 38,4 ± 7,4 балів через 9 та 12 місяців ($p \leq 0,05$). У другій групі покращення функції колінного суглоба за Oxford було більш рівномірним протягом всього періоду – 35,4±6,7 балів через 6 місяців, 37,4± 6,5 та 38,8± 7,2 бала через 9 і 12 місяців ($p \leq 0,05$). У пацієнтів першої та другої груп не відмічалось достовірної різниці у покращенні функціональної здатності суглоба за показниками шкали Oxford (рис. 7.9 а,б) при порівнянні методів лікування обома різновидами препаратів упродовж 12 місяців ($p \geq 0,05$).

Встановлено високу негативну кореляцію за критерієм Пірсона між больовими відчуттями за показниками ВАШ та оцінкою функціональної здатності колінного суглоба за шкалами Lysholm (рис. 7.10 а, б).

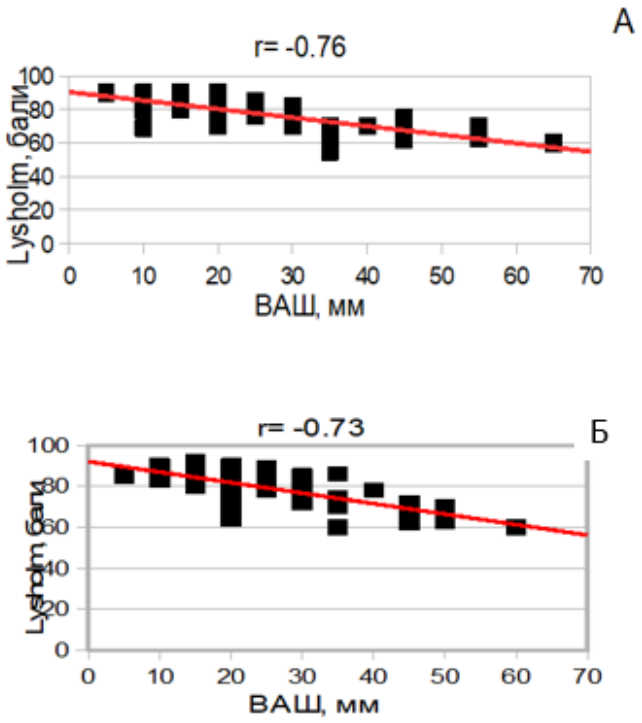
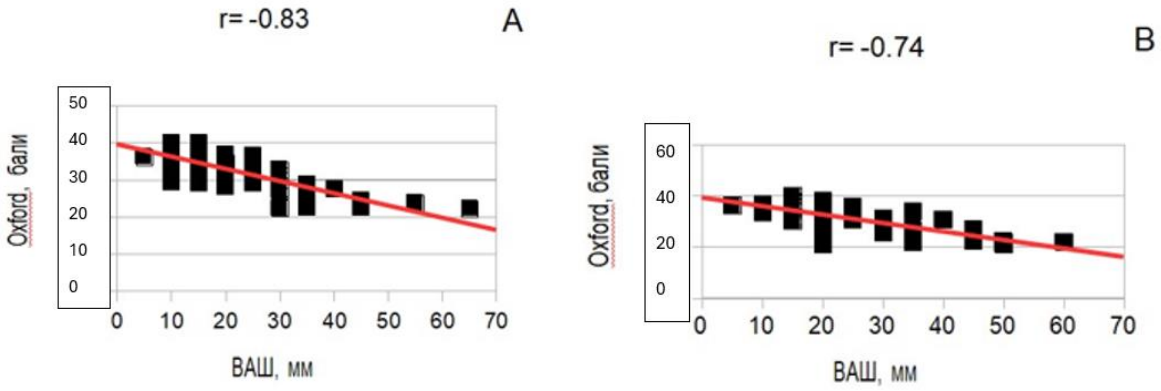


Рисунок 7.10 – Кореляція за критерієм Пірсона між шкалами ВАШ та Lysholm удосліджуваних пацієнтів 1-ї (а) та 2-ї (б) групи з гонартрозом 2-ї стадії

Також встановлено високу негативну кореляцію за показниками ВАШ та Oxford (рис. 7.11 а, б) у пацієнтів з 2-ю стадією гонартрозу в обох досліджуваних групах.



а) б)

Рисунок 7.11 – Кореляція за критерієм Пірсона між шкалами ВАШ та Oxford у досліджуваних пацієнтів 1-ї (а) та 2-ї (б) групи з гонартрозом 2-ї стадії

Оцінка отриманих результатів у пацієнтів з гонартрозом 3-ї стадії

У пацієнтів з гонартрозом 3-ї стадії незалежно від продукту, який використовувався, вдалося досягнути зменшення больових відчуттів та незначного покращення функціональної здатності впродовж 6 місяців. У подальшому у пацієнтів обох груп відзначали поступовий регрес позитивної симптоматики.

У пацієнтів з гонартрозом 3-ї стадії впродовж першого місяця відмічалось зменшення больових відчуттів за шкалою ВАШ до середнього значення 33,8 ± 6,4 мм у першій групі (55,6 ± 11,8 мм на початку) та до 45,1± 10,0 мм у другій (55 ± 7,1 мм на початку) (рис. 7.12) ($p \geq 0,05$). У обох групах позитивна динаміка зменшення ВАШ зберігалась до 6 місяців від початку лікування: індекси складали 26,9 ± 5,3 і 25 ± 4,1 мм відповідно, після чого через 12 місяців від початку лікування відмічалось поступове відновлення больових відчуттів до 31,3 ± 4,4 мм за ВАШ у першій групі та 32,1 ± 2,7 мм у другій ($p \leq 0,05$). У пацієнтів з обох груп не було різниці у зменшенні больових відчуттів за показниками ВАШ при порівнянні лікування Л-ЗТП та МЛ-ЗТП протягом 12 місяців ($p \geq 0,05$).

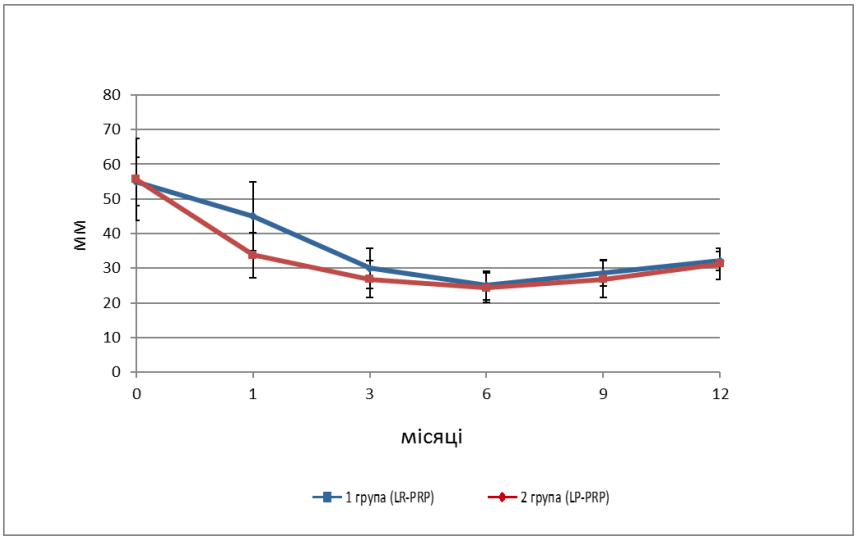
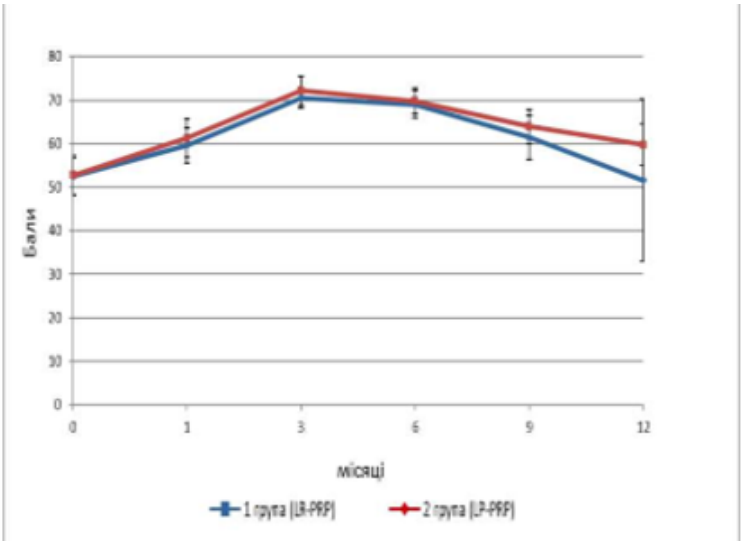
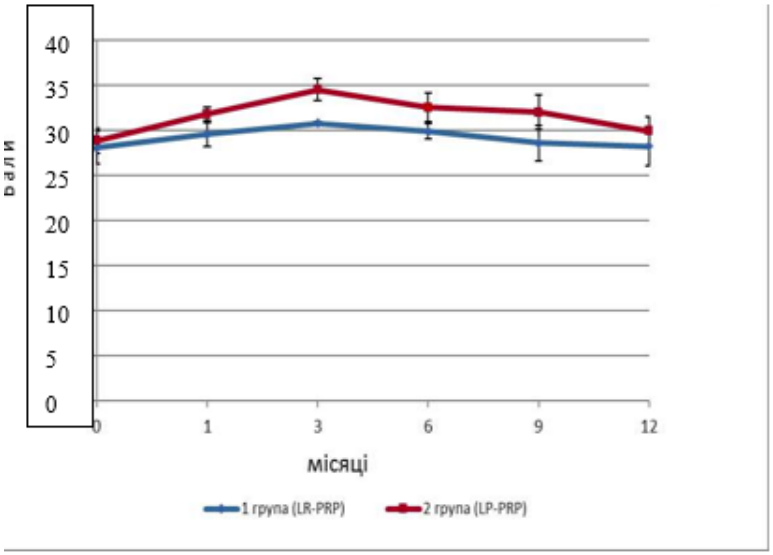


Рисунок 7.12 – Динаміка ВАШ у досліджуваних пацієнтів 1-ї (n = 8) та 2-ї (n = 7) групи пацієнтів з гонартрозом 3-ї стадії; M ± m

На початку лікування середні показники функціональної здатності у пацієнтів з артрозом колінного суглоба 3-ї стадії за шкалою Lysholm оцінені 52,8± 4,5 бали для пацієнтів першої групи, та 52,4 ± 4,3 балів для другої. За шкалою Oxford показники складали відповідно 26,4±3,1 та 25,5±4,1 балів (рис. 7.13 а,б).



а)



б)

Рисунок 7.13 – Динаміка показників функціональної здатності колінного суглоба за Lysholm (а) та Oxford (б) у досліджуваних пацієнтів 1-ї (n = 8) та 2-ї (n = 7) групи з гонартрозом 3-ї стадії; M ± m

Оцінка функціональної здатності колінного суглоба у пацієнтів показала позитивну динаміку з піком ефективності упродовж 3-х місяців – зростання показника до 72,1 ± 3,3 балів у першій та 70,6 ± 2,3 у другій групі з поступовим зменшенням досягнутого ефекту до 59,8 ± 4,9 і 51,6 ± 18,7 балів відповідно через 12 місяців від початку лікування ($p \geq 0,05$).

За шкалою Oxford пік ефективності складав 35,1±6,7 балів для першої та 31,9 ± 5,8 для другої групи, що також припадав на 3-й місяць від початку лікування з подальшим регресом. Через 12 місяців середні показники складали 30,8±5,7 балів у першій та 28,4±5,5 для у другій групі ($p \geq 0,05$). При порівнянні впливу лікування у пацієнтів з обох груп не встановлено достовірної різниці у функціональній здатність суглоба за показниками шкал Lysholm та Oxford протягом 12 місяців ($p \geq 0,05$).

Виявлено середню негативну кореляцію за критерієм Пірсона між больовими відчуттями за показниками ВАШ та оцінкою функціональної здатності колінного суглоба за шкалою Lysholm (рис. 7.14 а,б).

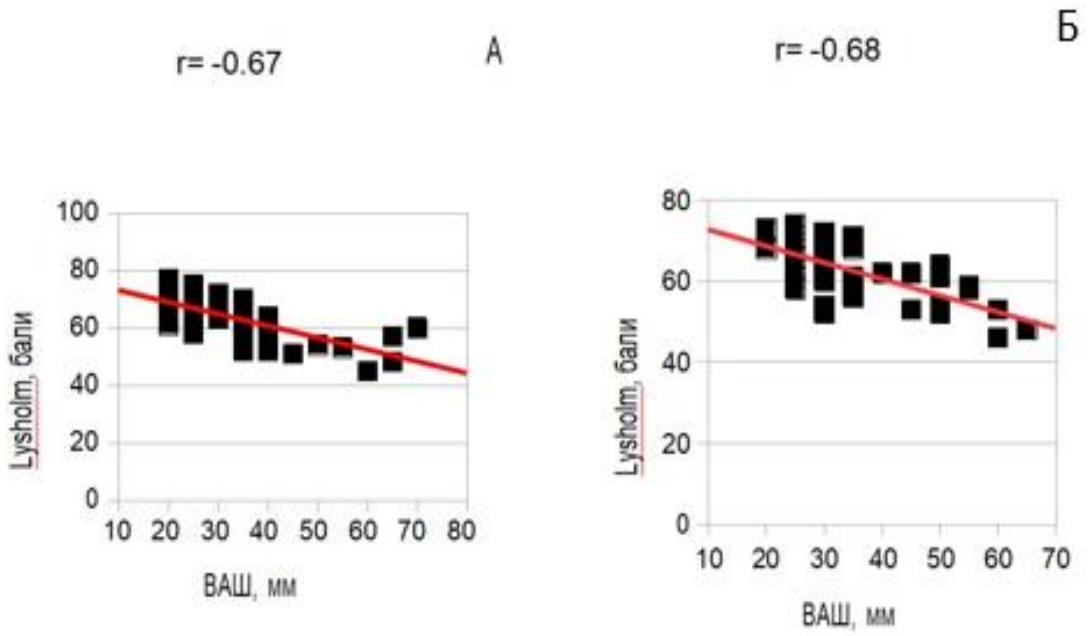
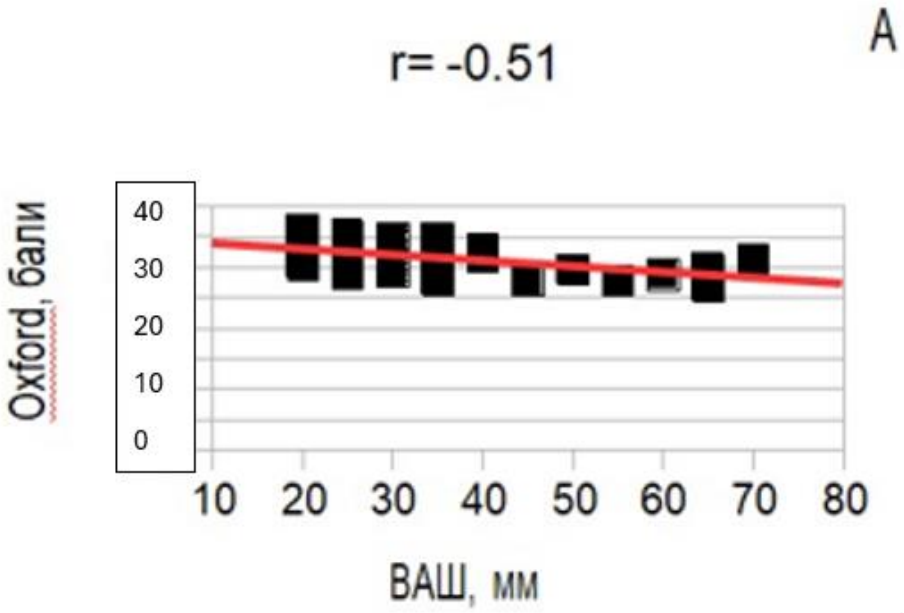
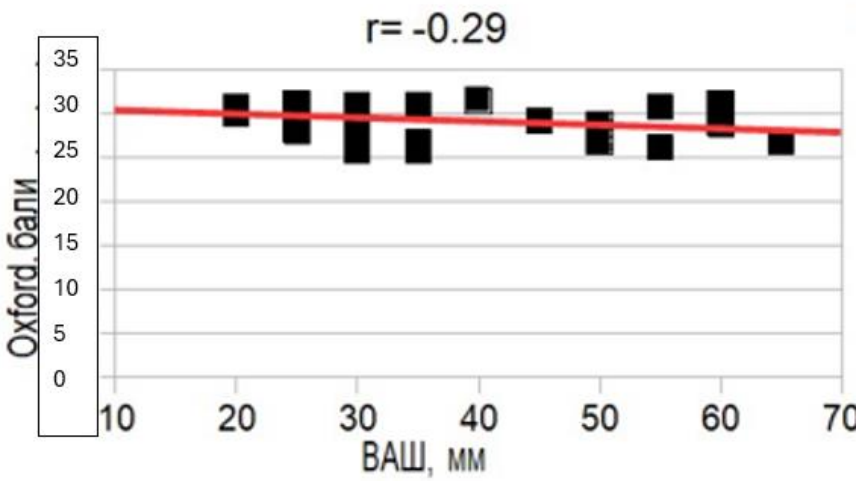


Рисунок 7.14 – Кореляція за критерієм Пірсона між шкалами ВАШ та Lysholm удосліджуваних пацієнтів 1-ї (а) та 2-ї (б) групи з гонартрозом 3-ї стадії

Також виявлено середню негативну кореляцію за критерієм Пірсона між больовими відчуттями за показниками ВАШ та оцінкою функціональної здатності колінного суглоба за шкалою Oxford (рис. 7.15 а,б).



а)



б)

Рисунок 7.15 – Кореляція за критерієм Пірсона між шкалами ВАШ та та Oxford (рис. 7.15 а,б) у пацієнтів з 3-ю стадією гонартрозу у обох досліджуваних групах

Порівнюючи отримані результати лікування пацієнтів з гонартрозом

різної стадії, можна виділити декілька важливих моментів. Основною скаргою пацієнтів, незалежно від стадії захворювання, був біль (85% пацієнтів). Обмеження рухів, як ізольований симптом турбував лише у 12,5% випадків (5 пацієнтів з 2-ю стадією та 1 пацієнт з 3-ю стадією гонартрозу). Біль під час ходи, фізичних навантажень був притаманний 44% пацієнтів (у 11 – з 1-ю стадією, у 10 – з 2-ю стадією захворювання), постійний біль був характерний для 35% пацієнтів (при 3-й стадії захворювання – 11 пацієнтів, при 2-й стадії – 4, при 1-й стадії – 2 пацієнти). В решті випадків больовий синдром носив непостійний характер.

В третій групі дослідження [284] отримали наступні результати. Показники функціонального стану колінного суглоба за шкалою WOMAC в обох підгрупах до лікування достовірно не відрізнялися: загальний індекс (бал) у підгрупі №1 склав (72,5 ± 5,6 балів) у підгрупі №2 (74,3 ± 4,4 бали). Після ін'єкційної терапії при повторному обстеженні через 3 місяці в усіх пацієнтів відмічали значне покращення якості життя за показником WOMAC: у підгрупі №1 (27,2 ± 3,6 балів) та у підгрупі №2 (27,7 ± 4,1 балів), достовірних відмінностей у результатах між групами не виявлено ($p > 0,05$). Проте вже через 12 місяців у пацієнтів підгрупи №1 відзначалося погіршення функціональних можливостей та поява больових відчуттів (42,6 ± 3,3 бала); у пацієнтів підгрупи №2 погіршення не спостерігалося, зберігалася позитивна динаміка (265 ± 43 бали). На момент останнього скринінгу через 2 роки показники функціонального стану WOMAC у групах достовірно відрізнялися (у групі №1 (53,6 ± 4,2 балів), у групі №2 (28,9 ± 3,6 балів)), ($p < 0,05$) (табл. 7.1).

Таблиця 7.1 – Динаміка клінічних показників на етапах спостережень за індексом WOMAC в групі № 1 (n = 58) та групі № 2 (n = 62), (M±σ)*

WOMAC	Період спостереження							
	До лікування		Через 3 міс.		Через 12 міс.		Через 2 роки	
	п/г №1	п/г №2	п/г №1	п/г №2	п/г №1	п/г №2	п/г №1	п/г №2
Загальний індекс (бал)	72,5 ± 5,6	74,3 ± 4,4	27,2 ± 3,6	27,7 ± 4,1	42,6 ± 3,3	26,5 ± 4,3	53,6± 4,2	28,9 ± 3,6
t-критерій	p >0,05		p >0,05		p <0,05		p<0,05	
Оцінка болю	3,7 ± 0,4	3,5 ± 0,5	1,7 ± 0,5	1,3 ± 0,6	2,1 ± 0,9	1,3 ± 0,6	3,9± 0,8	1,4 ± 0,7
t-критерій	p > 0,05		p > 0,05		p<0,05		p<0,05	
Оцінка рухливості суглоба	5,1 ± 0,3	5,3 ± 0,4	1,2 ± 0,4	1,3 ± 0,4	3,7 ± 0,3	1,4 ± 0,5	3,9± 0,4	1,5 ± 0,5
t-критерій	p >0,05		p >0,05		p<0,05		p<0,05	
Індекс ригідності	12,4 ± 0,6	12,9 ± 0,7	3,6 ± 0,5	3,4 ± 0,6	4,9 ± 0,4	3,2 ± 0,4	8,1± 06	3,6 ± 0,5
t-критерій	p > 0,05		p >0,05		p<0,05		p<0,05	
Оцінка активності та мобільності	51,7± 3,7	53,1 ± 4,1	20,5 ± 4,4	22,1 ± 4,6	31,9 ± 3,9	20,3 ± 4,3	37,5± 3,3	22,3 ± 3,2
t-критерій	p > 0,05		p > 0,05		p<0,05		p<0,05	

*Примітка: * - достовірність відмінностей при (p < 0,05)*

При детальному аналізі встановлено, що позитивна динаміка в обох групах спостерігалася протягом 3 міс., а саме: показник активності та мобільності WOMAC через 3 місяці у підгрупі №1 покращився на 60,3% (20,5 ± 4,4), а у підгрупі №2 на 58,3% (22,1 ± 4,6); показник болю покращився у

підгрупі №1 на 54,1% (1,7 ± 0,5) та у підгрупі №2 на 62,8% (1,3 ± 0,6 бала). Проте вже через 1 рік у пацієнтів у підгрупі №1 динаміка почалапогіршуватися, і при фінальному обстеженні через 2 роки спостерігалося: погіршення за індексом ригідності (8,1 ± 0,6), показником рухливості суглоба (3,9 ± 0,4) і показником мобільності (37,5 ± 3,3), хоча остаточні результати все ж були кращими за результати первинного спостереження до процедур ін'єкційної терапії. У підгрупі №2 позитивна динаміка зберігалася протягом усього періоду спостереження (показник ригідності (3,6 ± 0,5) та показник мобільності (22,3 ± 3,2 бала)). Показники в підгрупах на момент останнього скринінгу були достовірними ($p < 0,05$). Оцінка результатів лікування болю та функції колінного суглоба за Oxford knee score (OKS). Використовуючи в дослідженні Oxford knee score, ми дійшли висновку, що у пацієнтів обох підгруп спостерігалися функціональні порушення середнього ступеня тяжкості: у підгрупі №1 (18,2±3,2 балів) та у підгрупі №2 (17,1±3,1) балів), достовірних відмінностей між показниками обох груп на етапі первинного спостереження не виявлено ($p>0,05$). Після проходження курсу ін'єкційної терапії в обох групах спостерігалася позитивна динаміка, яка зберігалася до повторного спостереження через 12 міс. При повторному обстеженні через 2 роки з'ясувалося, що у підгрупі №1 якість життя пацієнтів погіршилася, у підгрупі №2 функціональні можливості пацієнтів були вищими (рис. 7.16).

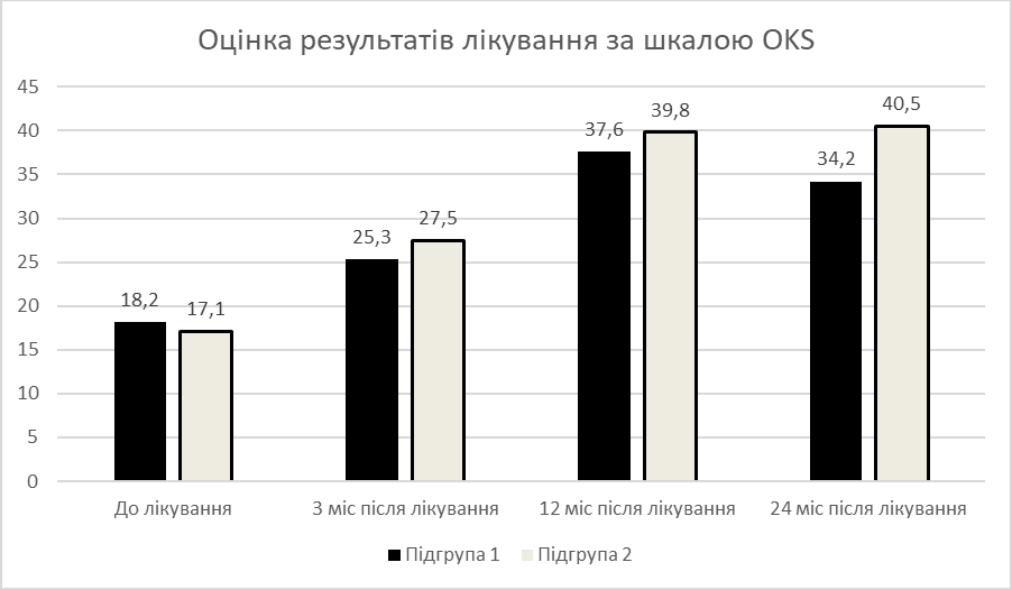


Рисунок 7.16 – Оцінка результатів лікування за функціональним показником Oxford knee score у групі №1 (n=58) та групі №2 (n=62) на етапах обстеження. Група 1 (чорний стовпчик), група 2 (білий стовпчик). До лікування, через 3 міс, через 12 міс та через 24 міс після лікування

Оцінка результатів лікування больового синдрому за шкалою ВАШ. Оцінюючи результати анкетування з ВАШ при повторному спостереженні через 3 місяці, позитивна динаміка була виявлена серед пацієнтів обох груп: у підгрупі №1 (з 5,8 ± 1,2 балів до 2,1 ± 0,6 балів) та підгрупі №2 (з 5,2 ± 1,4 балів до 1, 9 ± 0,7 балів) ($p > 0,05$) (рис. 7.17).

Проте вже за 12 місяців спостерігалося збільшення середнього показника больового синдрому підгрупи №1 (до 3,3 ± 0,7 балів), яке зберігалося протягом усього періоду спостереження (4,2 ± 0,6 балів). У підгрупі №2 позитивна динаміка зберігалася протягом усього періоду спостереження (через 12 місяців 1,2±0,5 балів) ($p \leq 0,05$).

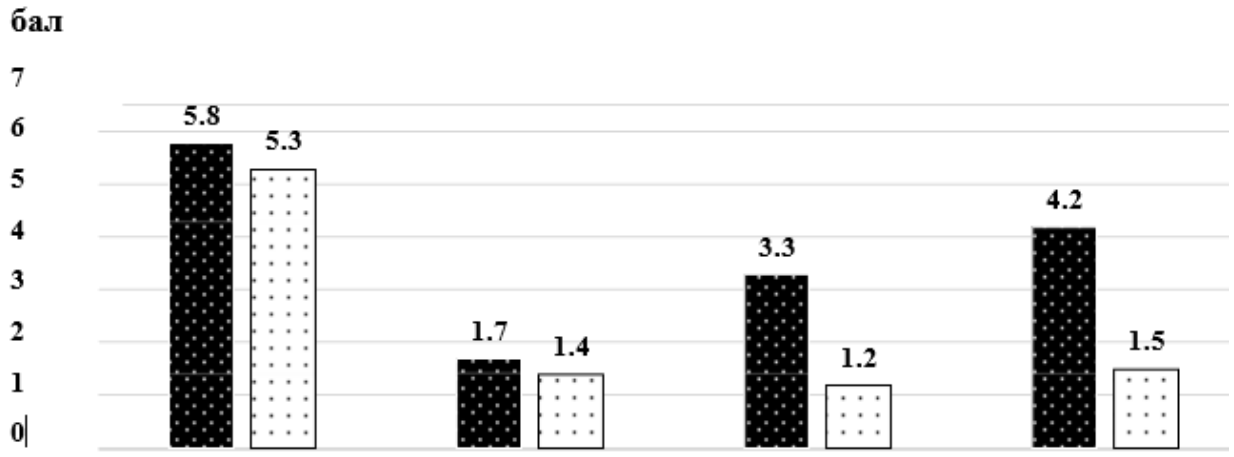


Рисунок 7.17 – Динаміка інтенсивності больового синдрому за ВАШ пацієнтів групи №1 (n = 58) та групи №2 (n = 62) на етапах обстеження. Підгрупа 1 (чорний стовпчик), підгрупа 2 (білий стовпчик). До лікування, через 3 міс, через 12 міс та через 24 міс після лікування

У ***четвертій групі дослідження*** [285] середній показник за шкалою ВАШ серед пацієнтів, які отримували лікування з використанням ЗТП до початку лікування становив 4,5 мм у пацієнтів з 1 стадією остеоартрозу колінного суглоба, 4,3 мм - з 2 стадією та 5,2 мм - з 3 стадією. Серед пацієнтів, яким длялікування був використаний розчин декстрози (РД), середні показники за ВАШ складали 4,2 мм при 1 стадії остеоартрозу колінного суглоба, 4,4 мм - при 2 стадії та 4,8 мм - при 3 стадії. У більшості випадків (36 пацієнтів), незалежно від стадії захворювання, відмічали значне загострення больового синдрому за шкалою ВАШ протягом перших 2-4 днів після ін'єкціїнезалежно від обраного варіанту лікування. Однак у пацієнтів, яким проводили лікування РД, відмічали більш значне посилення больових відчуттів та набряку в місцях проведення ін'єкцій (рис. 7.18–7.19).

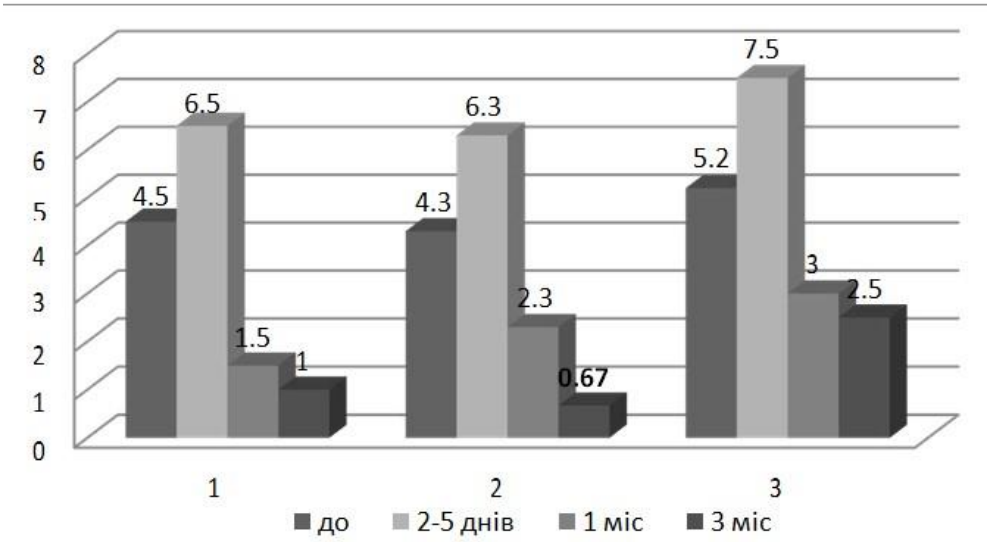


Рисунок 7.18 – Гістограма динаміки інтенсивності больового синдрому за шкалою ВАШ при лікуванні ЗТП

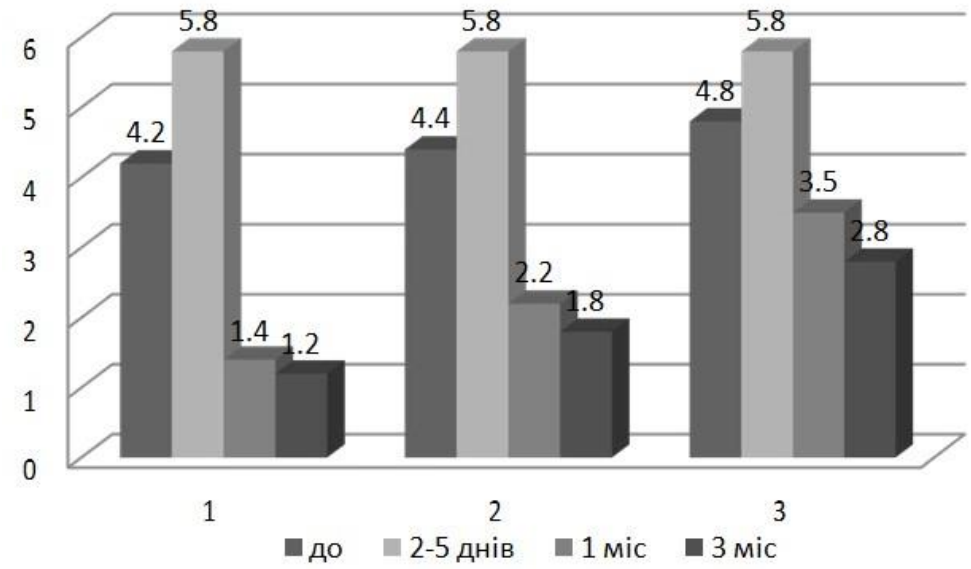


Рисунок 7.19 – Гістограма динаміки інтенсивності больового синдрому за шкалою ВАШ при лікуванні РД

В подальшому, при спостереженні через 1 та 3 місяці спостерігалось стійке зниження больового синдрому, що було найбільш виражене у пацієнтів з 1 та 2 стадією захворювання – на 77,8% та 84,4% у пацієнтів, які отримували лікування з використанням ЗТП, та 71,4% і 59,1% – у пацієнтів після застосування РД. У пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба 3 стадії на

фоні проведеного лікування відбулося зниження больового синдрому на 48% після застосування ЗТП та на 41,2% – при застосуванні РД.

При оцінці функціональної здатності колінного суглоба за шкалою OKS через 3 та 12 місяців від початку лікування, спостерігали стійке зростання показників якості життя у пацієнтів з 1-ю та 2-ю стадією остеоартрозу колінного суглоба. У пацієнтів з 3-ю стадією відмічали незначне покращення, яке спостерігалось в короткотривалому періоді, однак через 12 місяців показники поступово знижувались та через рік складали лише 4,3%. На нашу думку, такий результат пов´язаний у першу чергу зі знеболюючим ефектом від проведеного лікування (рис. 7.20).

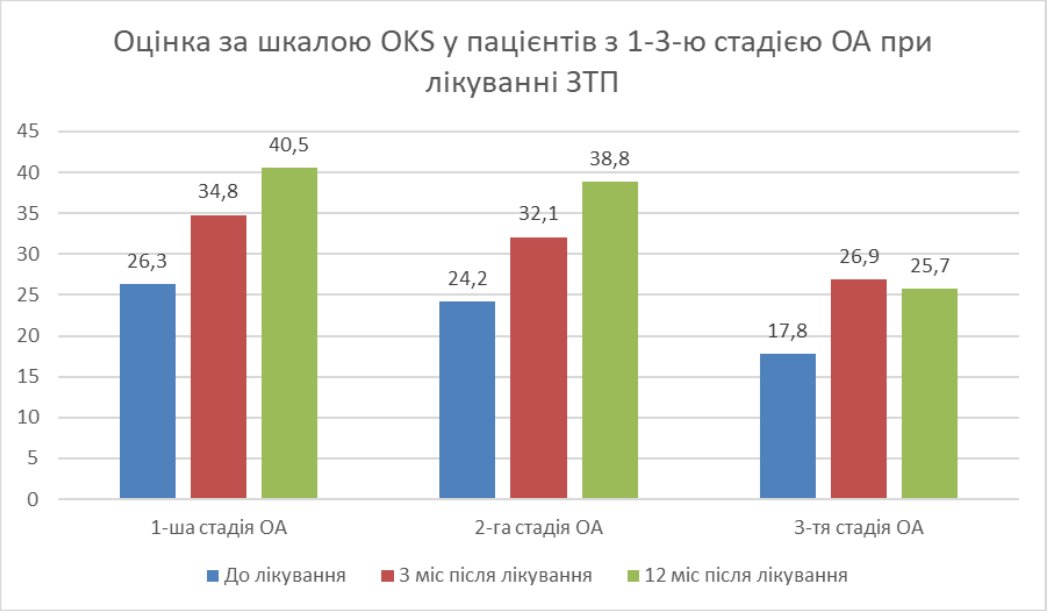


Рисунок 7.20 – Гістограма динаміки функціональної здатності за шкалою OKS ЗТП

У групи пацієнтів після лікування РД показники функціональної здатності колінного суглоба за шкалою OKS також мали позитивну динаміку при оцінці через 3 місяці. При порівнянні результатів через 12 місяців у пацієнтів з 2 стадією остеоартрозу колінного суглоба, спостерігалась незначна

регресія показників якості життя, а у пацієнтів з 3 стадією показники майже зрівнялись з вихідними значеннями (рис. 7.21).

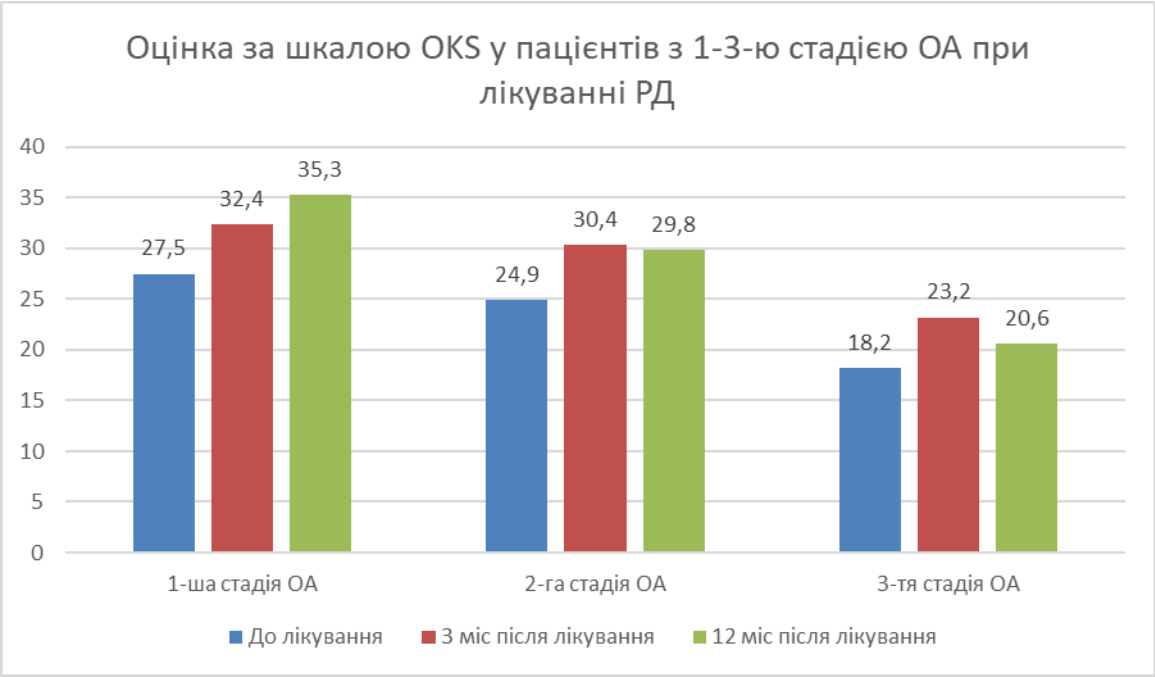


Рисунок 7.21 – Гістограма динаміки функціональної здатності за шкалою OKS РД

Схожу закономірність зміни функціональної здатності отримано і при оцінці результатів за шкалою Lysholm (рис. 7.22), а саме, після лікування з застосуванням ЗТП показники функціональної здатності колінного суглоба зберігали позитивну динаміку упродовж 12 місяців у пацієнтів з 1 та 2 стадією остеоартрозу колінного суглоба.

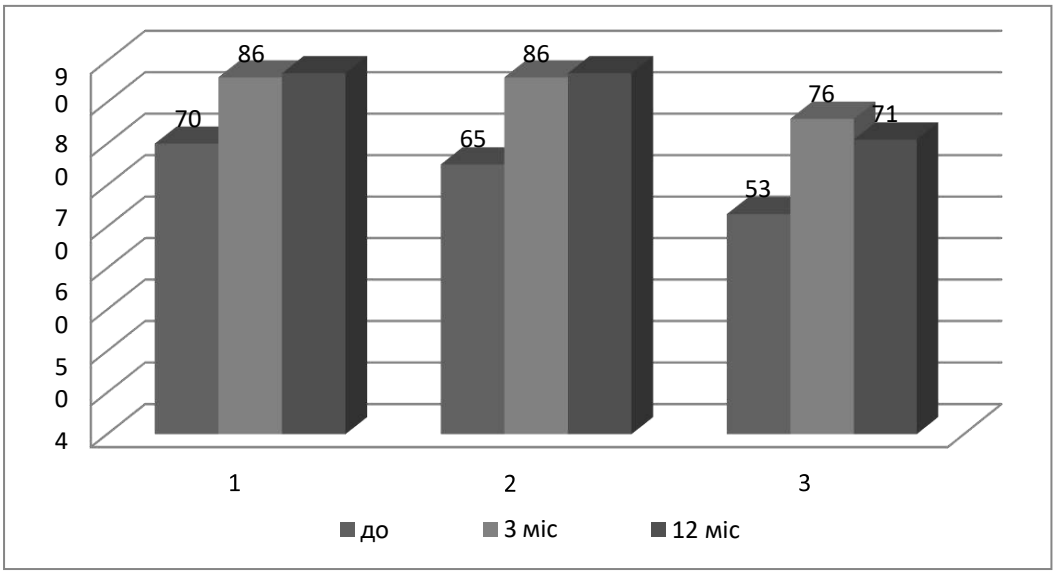


Рисунок 7.22 – Гістограма динаміки функціональної здатності за шкалою Lysholm ЗТП

В той же час, на фоні використання РД позитивна динаміка зберігалась лише протягом 3 місяців (рис. 7.23).

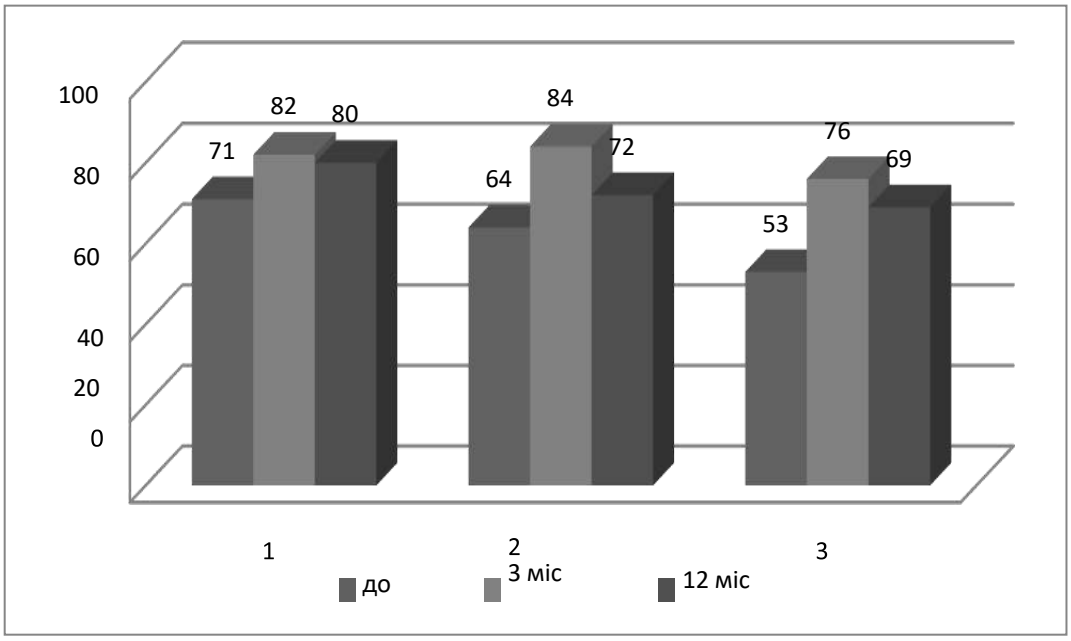


Рисунок 7.23 – Гістограма динаміки функціональної здатності за шкалою Lysholm РД

У п'ятій групі дослідження [286] середній показник за шкалою ВАШ серед пацієнтів, які отримували лікування з використанням АМК, до початку лікування становив 54 мм у пацієнтів з 1 стадією гонартрозу, 52 мм з 2 стадією та 62 мм у пацієнтів з 3 стадією гонартрозу. У 6 пацієнтів, незалежно від стадії захворювання, відмічали помітне загострення больового синдрому за шкалою ВАШ протягом перших 2-5 днів після ін'єкції на 15% порівняно з вихідними показниками з подальшим поступовим зниженням. Позитивна динаміка спостерігалась протягом всього періоду спостереження. Регрес симптоматики спостерігався у пацієнтів через 12 міс після початку лікування, однак показники залишались нижчими за вихідні рівні (рис. 7.24).

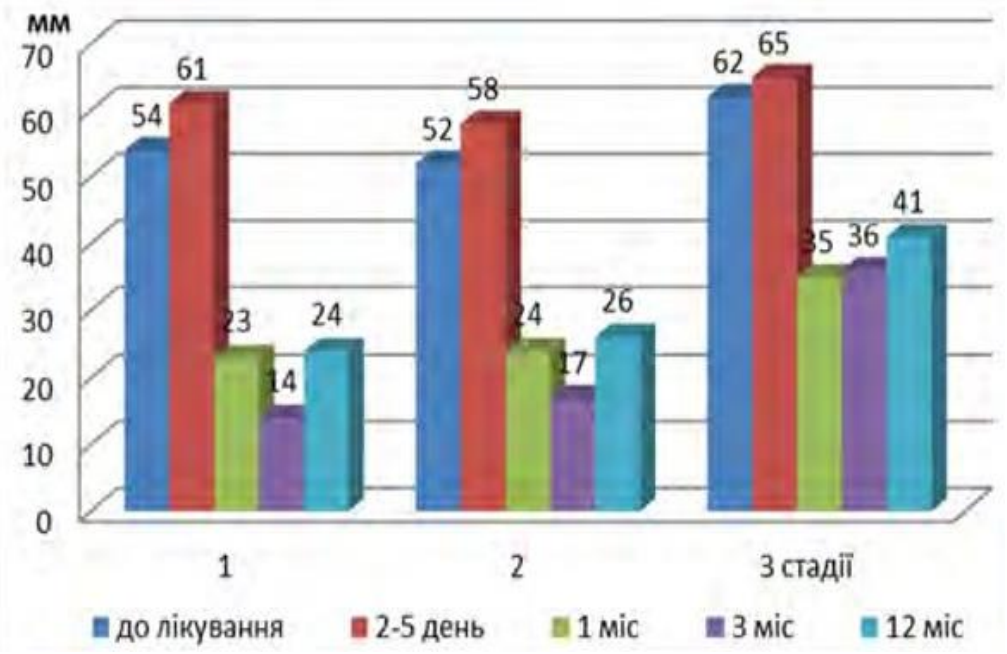


Рис. 7.24 – Динаміка больового синдрому за ВАШ у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба на етапах лікування (мм)

При оцінці функціональної здатності колінного суглоба за шкалою Oxford через 3, 6 та 12 місяців від початку лікування, стійке зростання показників відмічалось у пацієнтів з 1-ю та 2-ю стадією гонартрозу — на 43,6% та 62,1% відповідно (через рік спостереження). У пацієнтів з 3-ю стадією гонартрозу незначне покращення спостерігалось в короткотривалому періоді, однак через 6 місяців показники поступово знижувались та через рік складали лише 4,3%.

У шостій групі дослідження *отримали наступні результати* [287]. *Оцінка якості життя та функціонального стану за WOMAC.* Показники функціонального стану колінного суглоба за шкалою WOMAC між групами не мали статистично значущих відмінностей до лікування: так, загальний індекс (бал) у групі №1 складав 50,6 ± 8,7 балів у групі №2 49,4±7,4 балів, та у групі №3 42,2 ± 8,1 балів, (p >0,05) (таб. 7.2). Після ін'єкційної терапії при планових повторних обстеженнях у пацієнтів групи №1 відмічалося статистично достовірне покращення функціонального стану за результатами анкетування, яке зберігалось протягом усього періоду спостереження: через 3 міс. 20,8 ± 9,4 балів (p<0,01), через 12 міс. 8,9 ± 3,7 балів (p<0,01), через 36 міс. 4,0 ± 1,9 балів (p<0,01) (таб 7.2). В групі №2 після застосування НПЗЗ та кінезіотерапії позитивної динаміки не спостерігалось як на короткострокових, так і на віддалених етапах спостережень: через 3 місяці 48,7 ± 5,1 бали, через 12 місяців 56,8 ± 3,4 бали та через 36 місяців 72,2 ± 7,1 бали (таб. 7.2). Пацієнти групи №3 в післяопераційному періоді через 3 місяці відмічали покращення функціонального стану (21,0 ± 7,9 бали), однак вже через 2 роки у прооперованих пацієнтів спостерігалось погіршення і повернення до доопераційних показників (43,0 ± 6,4 бали), а через 36 місяців стан прооперованих пацієнтів навіть погіршився відносно передопераційних даних, що свідчить про короткостроковість позитивного результату артроскопічної парціальної резекції (64,1±5,9 бали, p < 0,05) (таб 7.2).

Таблиця 7.2 – Динаміка показників (M±m) за шкалою VAS, шкалою Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) та анкетуванням WOMAC на етапах спостереження

	Період спостереження						Достовірність відмінностей при порівнянні з первинними даними t-критерій
	Первинні дані	3-й міс.	6-й міс.	12-й міс.	24-й міс.	36-й міс.	
Група №1							
KOOS, бали	69,3±5,3	78,3±4,7	85,7±5,9*	91,5±4,9*	94,4±7,1*	94,5±4,8*	p<0,01
WOMAC, бали	50,6±8,7	20,8±9,4*	10,6±6,7*	8,9±3,7*	3,5± 1,7*	4,0± 1,9*	p<0,01
VAS, см	7,4±1,3	3,8±1,7*	2,04±1,1*	2,16±1,4*	1,2±0,3*	1,2±0,5*	p<0,05
Група №2							
KOOS, бали	66,1±4,4	59,2±5,7	53,8±4,4*	44,6±5,1*	34,9±4,7*	24,9±3,9*	p<0,01
WOMAC, бали	49,4±7,4	48,7±5,1	51,7±6,4	56,8±3,4*	64±4,6*	72,2±7,1*	p<0,01
VAS, см	6,8±1,4	4,5±2,1	5,6±1,8	6,7±1,7	7,7±1,8	7,6±1,9	p >0,05
Група №3							
KOOS, бали	67,6±6,4	79,6±5,4	80,6±8,4*	75,5±5,4	58,0±6,4*	47,1±5,7*	p<0,05
WOMAC, бали	42,2±8,1	21,0±7,9*	18±6,5*	22,7±5,5*	43,0±6,4	64,1±5,9*	p<0,05
VAS, см	7,3±1,3	1,9±1,1*	1,7±1,9*	2,3±1,5*	4,2±2,0*	5,7±1,9*	p<0,05

Оцінка функціональної активності за результатами Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score. До лікування у пацієнтів спостерігалися функціональні порушення середнього ступеня тяжкості у всіх групах: в групі №1 69,3±5,3 бали, в групі №2 66,1±4,4 бали, та в групі №3 67,6±6,4 бали,

достовірних відмінностей між показниками обстежених груп на етапі первинного спостереження не встановлено (p > 0,05).

Після лікування середні значення за шкалою KOOS склали в групі №1: через 3 місяці – 78,3 ± 4,7 бали; через 12 місяців – 91,5 ± 4,9 бали, та через 24 місяці – 94,4 ± 7,1 бали, тобто в середньому по групі протягом 3-х років спостерігалась позитивна динаміка з відмінним результатом у більшості пацієнтів (94,5 ± 4,8 бали). У групі №2 отримано наступні результати: через 3 місяці після лікування – 59,2 ± 5,7 бали, через 12 місяців – 44,6 ± 5,1 бали, та через 24 місяці – 34,9 ± 4,7 бали. Наприкінці дослідження через 36 місяців в середньому рівень активності та можливостей пацієнтів групи №2 відповідав «незадовільному» (24,9 ± 3,9), тобто, протягом застосування НПЗП та кінезіотерапії у пацієнтів відбулось достовірно значуще погіршення стану колінних суглобів порівняно з вихідними даними (p < 0,01).

У групі №3 середні значення за шкалою KOOS після 3 місяців лікування складали 79,6 ± 5,4 бали, через 12 місяців – 75,5 ± 5,4 бали, та через 24 місяці – 58,0 ± 6,4 бали. Наприкінці дослідження через 36 місяців в середньому рівень активності та можливостей пацієнтів групи №3 відповідав також «незадовільному» (47,1 ± 5,7 бали), тобто, не дивлячись на покращення стану після операції, позитивний результат зберігався лише протягом 12 місяців, з подальшим прогресуванням та поверненням симптомів, що відображено в результатах опитування пацієнтів через 3 роки (рис 7.25).

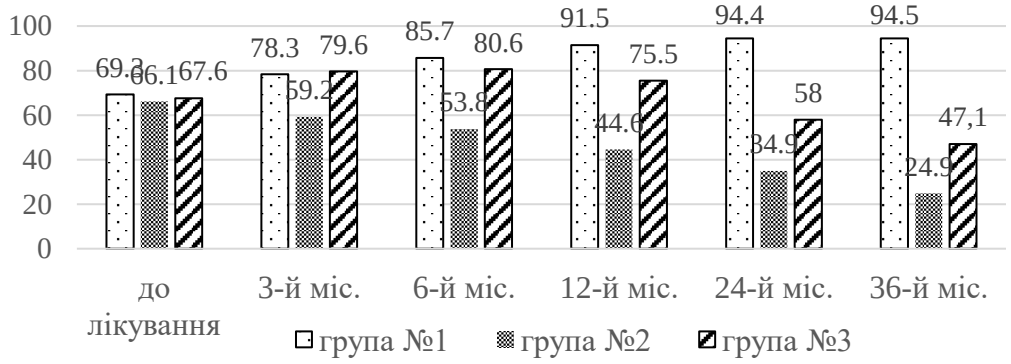


Рисунок 7.25 – Діаграма динаміки результатів лікування за шкалою Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) у групах обстеження

Оцінка больового синдрому за VAS. Порівняльний аналіз результатів лікування пацієнтів показав, що статистично значуще зменшення больових відчуттів у стані спокою відбулось у групі №1 через 3 місяці – 3,8±1,7 см та через 36 місяців – 1,2±0,5 см, ($p < 0,01$) порівняно з первинними показниками. У групі №2 динаміка була нестабільною, а з часом у пацієнтів, які приймали НПЗП та проходили курс кінезіотерапії, спостерігалось посилення болю в КС протягом другого та третього року спостереження (через 24 місяці – 7,7 ± 1,8см та через 36 місяців – 7,6 ± 1,9 см ($p > 0,05$). У групі №3 у прооперованих пацієнтів зниження больового синдрому було вираженим протягом першого року (через 3 місяці – 1,9 ± 1,1 см та через 12 місяців – 2,3 ± 1,5 см, ($p < 0,01$), з поступовим поверненням болю на доопераційний рівень (через 36 міс. – 5,7 ±1,9 см) (рис. 7.26).

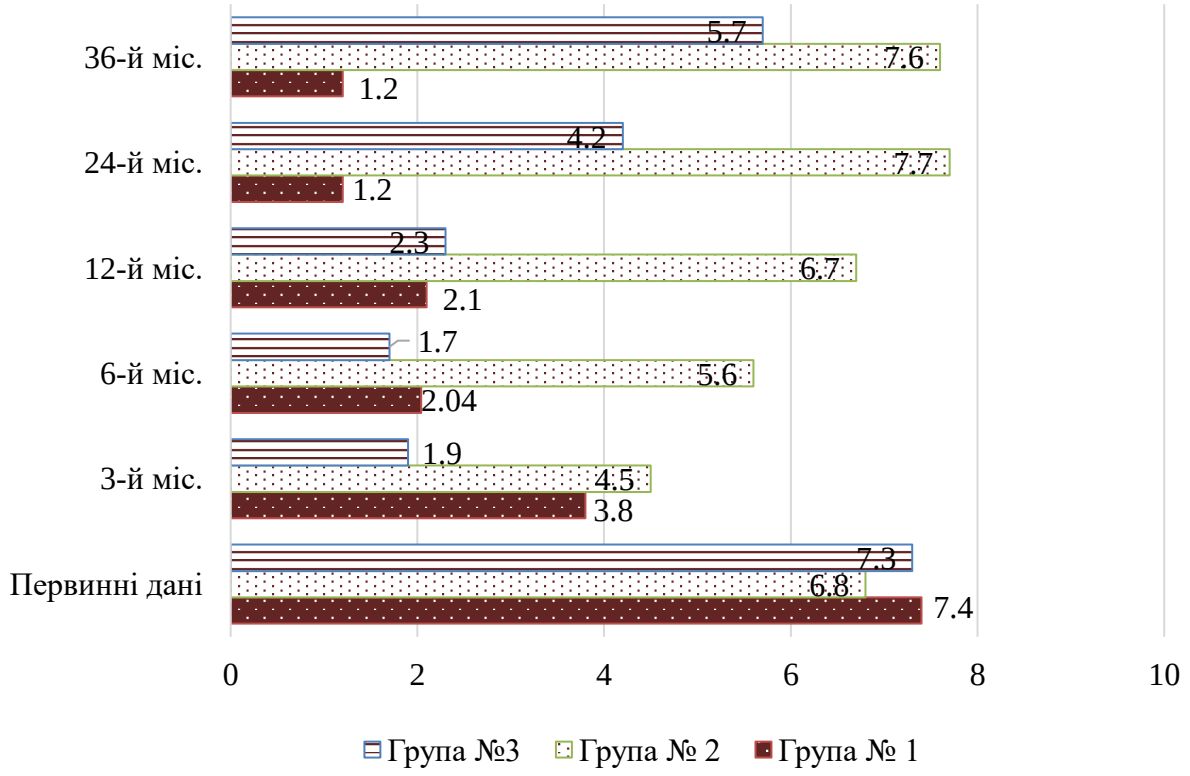


Рисунок 7.26 – Діаграма динаміки результатів лікування за шкалою VAS (см) у групах обстеження

Таким чином, результати проведених нами досліджень демонструють найбільшу ефективність регенеративних інтервенційних технологій на прикладі аутологічних концентратів периферичної крові людини у пацієнтів з першою та другою стадією остеоартрозу кульшового та колінного суглобів, стабільно покращуючи якість життя згідно результатів аналізу різних опитувальників.

За даними порівняльного аналізу застосування аутологічних концентратів периферичної крові людини, а саме лейкоцитарної та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми і аутологічного кріолізату тромбоцитів, у пацієнтів з першою та другою стадією остеоартрозу кульшового та колінного суглобів продемонстувало покращення якості їх життя на 60-65 % у різних дослідженнях стабільно протягом року спостереження. У той же час застосування гіалуронової кислоти, продемонструвало значно менший приріст покращення якості життя пацієнтів з 1-ю та 2-ю стадією остеоартрозу. Він склав лише 10,1%. Перспективною виявилася комбінація аутологічних концентратів периферичної крові людини та гіалуронової кислоти, яка теж в різних наших дослідженнях продемонструвала стабільне покращення якості життя пацієнтів з остеоартрозом першої та другої стадії протягом року спорстереження. В усіх випадках спостерігали як зменшення больового синдрому, так і підвищення функціональної здатності суглоба навіть до 75%. Позитивний ефект достовірно відмічали за усіма шкалами та їх комбінаціями, які застосовували.

У пацієнтів з третьою стадією остеоартрозу стабільну позитивну динаміку покращення якості життя за результатами опитувальників відмічали протягом перших трьох місяців після завершення лікування. В подальшому якість життя погіршувалася. Тому при третій стадії остеоартрозу з метою тривалого знеболюючого ефекту та покращення функціональної здатності суглоба рекомендуємо другим етапом застосовувати введення концентратів жирової тканини та аспірату кісткового мозку.

При порівняльному аналізі регенеративної ін'єкційної терапії (РІТ) аутологічними концентратами периферичної крові з фізичною терапією, прийомом нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) та артроскопічною парціальною резекцією менісків у пацієнтів з першою та другою стадією остеоартрозу колінного суглоба, отримані результати демонструють ефективність застосування РІТ як у короткостроковій (до 3 місяців), так і у віддаленій перспективі (до 3-х років), що відображено у покращенні функції суглоба та достовірному зменшенні рівня больового синдрому у пацієнтів (за результатами ВАШ, анкетуванням KOOS та WOMAC). Використання НПЗП та фізичної терапії не було ефективним у короткостроковій перспективі (3-6 місяців), а з часом стан пацієнтів лише погіршувався. Виконання парціальної резекції меніска під артроскопічним контролем дозволяло зменшити біль та відновити функціональний стан до задовільного протягом одного року. В подальшому відмічали прогресування симптомів болю та функціональних обмежень на другий та третій рік спостереження.

За результатами аналізу застосування бітехнологічних продуктів у досліджуваних групах пацієнтів виділили наступні критерії їх якості:

- знеболювальний ефект;
- покращення якості життя згідно опитувальників (виділили наступні показники: оцінка рухливості суглоба, індекс ригідності, оцінка активності та мобільності);
- тривалість знеболювального ефекту;
- тривалість покращення якості життя згідно опитувальників (рухливість суглоба, індекс ригідності, активність та мобільність).

Також за результатами аналізу виділили наступні клінічні критерії безпеки застосування біотехнологічних продуктів:

- наявність ускладнень (за весь період застосування регенеративної ін'єкційної терапії у досліджуваних пацієнтів отримали 2 випадки ускладнень: дебют ревматоїдного артриту при лікуванні остеоартрозу кульшового суглоба 2-ї стадії збагаченою тромбоцитами плазмою та хронічний синовіїт колінних

суглобів при лікуванні остеоартрозу колінних суглобів 3-ї стадії аутологічним кріолізатом тромбоцитів).

- наявність побічних дій.

При застосуванні регенеративної ін'єкційної терапії у досліджуваних пацієнтів відмічали наступні побічні дії:

- загострення больового синдрому після ін'єкції;
- набряк у місці введення біотехнологічного продукту;
- обмеження рухливості в суглобі після введення біотехнологічного продукту;
- гематома в місці ін'єкції;
- вегетосудинні реакції.

7.2 Результати лікування пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового та колінного суглобів

Аналіз динаміки клінічних показників на етапах спостереження у пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів за шкалами HOOS та KOOS відповідно, залежно від варіанту застосування PIT в групі №1 (тунелізація проксимального відділу стегнової кістки або виростка стегнової кістки з введенням мононуклераної фракції аспірату кісткового мозку) та групі №2 (передопераційна підготовка шляхом внутрішньосуглобового введення аутологічних концентратів периферичної крові з подальшою тунелізацією проксимального відділу стегнової кістки або виростка стегнової кістки з введенням мононуклераної фракції аспірату кісткового мозку), (M±σ) представлено в таблиці 7.3 (* – достовірність відмінностей при $p < 0,05$).

Таблиця 7.3 – Динаміка клінічних показників пацієнтів з асептичним некрозом ділянки кульшового та колінного суглобів на етапах спостереження за шкалами HOOS (KOOS) залежно від варіанту PIT

HOOS (KOOS)	Період спостереження							
	До лікування		Через 3 міс.		Через 6міс.		Через 12 міс	
	Гр.№1	Гр.№2	Гр.№1	Гр.№2	Гр.№1	Гр.№2	Гр.№1	Гр.№2
Загальний індекс відсотки (стандартна девіація)	28,5 (11,4)	28,2 (10,9)	40,2 (10,6)	42,7 (10,2)	50,6 (10,1)	60,4 (10,5)	62,6 (14,8)	71,7 (11,9)
Оцінка болю відсотки (стандартна девіація)	35,8 (8,4)	36,3 (8,1)	54,2 (7,9)	59,1 (8,2)	61,4 (7,8)	73,2 (6,9)	69,8 (13,9)	81,6 (11,1)
Оцінка симптомів відсотки (стандартна девіація)	34,9 (12,6)	33,8 (12,1)	52,8 (12,8)	53,6 (11,9)	62,9 (10,7)	65,2 (13,8)	69,4 (14,9)	73,8 (10,9)
Оцінка функції суглоба відсотки (стандартна девіація)	36,5 (10,6)	36,8 (9,8)	42,3 (8,7)	45,6 (7,3)	54,1 (8,5)	63,8 (7,1)	65,9 (15,1)	77,1 (12,4)
Можливість складних навантажень відсотки (стандартна девіація)	15,7 (12,4)	14,9 (11,7)	25,8 (11,9)	26,7 (11,5)	32,8 (12,1)	43,1 (11,9)	49,3 (17,1)	55,2 (14,8)
Якість життя відсотки (стандартна девіація)	19,8 (13,2)	19,5 (12,8)	25,9 (11,7)	28,1 (12,3)	41,9 (11,5)	55,4 (12,8)	58,7 (13,2)	70,7 (10,1)
кореляція Пірсона	$p > 0,05$		$p > 0,05$		$p<0,05$		$p<0,05$	

Проведено оцінку динаміки результатів лікування пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів залежно від варіанту РІТ за шкалами OHS та OKS відповідно (рис. 7.27) (група 1 - тунелізація з введенням мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку, група 2 - передопераційна підготовка шляхом внутрішньосуглобового введення аутологічних концентратів периферичної крові).

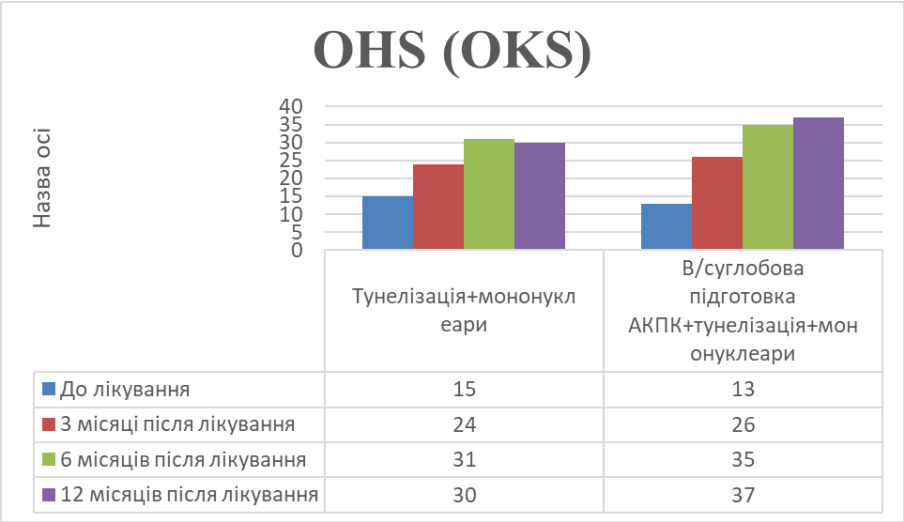


Рисунок 7.27 – Діаграма оцінки динаміки результатів лікування пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів залежно від варіанту РІТ за шкалою Oxford до лікування, через 3 міс, через 6 міс та через 12 міс після лікування (пояснення в тексті)

Оцінили динаміку результатів лікування пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів залежно від варіанту РІТ за шкалою ВАШ (група 1 – тунелізація з введенням мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку, група 2 – передопераційна підготовка шляхом внутрішньосуглобового введення аутологічних концентратів периферичної крові) (рис. 7.28).

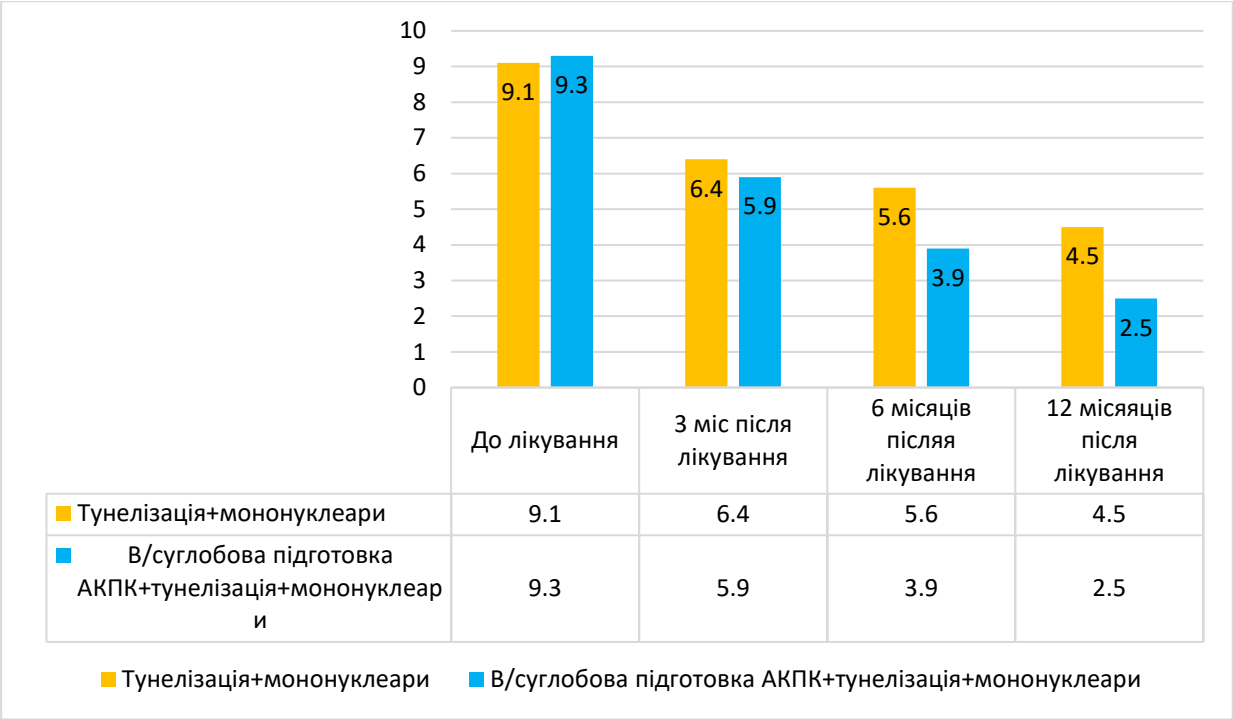


Рисунок 7.28 – Діаграма динаміки результатів лікування пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів залежно від варіанту РІТ за шкалою ВАШ (пояснення в тексті)

Як бачимо з аналізу отриманих результатів, показники якості життя пацієнтів у групі, де проводилася передопераційна підготовка шляхом внутрішньосуглобового введення аутологічних концентратів периферичної крові продемонстрували кращу динаміку щодо знеболення та покращення функції суглоба, ніж у групі, де проводилася виключно тунелізація з введенням мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку.

Наступним етапом стала оцінка динаміки клінічних показників на етапах спостереження залежно від стадії захворювання за Ficat. Результати оцінки якості життя у пацієнтів з асептичним некрозом головки стегнової кістки представлено в таблиці 7.4.

Таблиця 7.4 – Динаміка клінічних показників пацієнтів з асептичним некрозом головки стегнової кістки на етапах спостереження залежно від стадії захворювання за Ficat за шкалами Harris Hip Score, OHS та ВАШ в групі №1 (Ficat 1), групі №2 (Ficat 2) та групі №3 (Ficat 3), M±σ*

	Період спостереження				Достовірність відмінностей при порівнянні з первинними даними (кореляція Пірсона)
	Первинні дані	3-й міс.	6-й міс.	12-й міс.	
Ficat 1					
Harris, бали	67,1±8,3	79,1±7,7	81,4±6,9	90,5±5,8	p<0,01
OHS, бали	22,4± 3,7	32,1± 6,4	36,3± 4,7	42,4 ± 5,7	p<0,01
VAS, см	7,9±1,3	3,7±1,9	2,9±1,4	2,0±1,2	p<0,01
Ficat 2					
Harris, бали	65,5±7,4	72,5±5,4	79,1±4.9	85,5±6,4	p<0,05
OHS, бали	17,8±3,4	26,2±5,1	31,8±4,4	37,1±6,4	p<0,01
VAS, см	9,4±0,6	4,7±2,1	3,8±1,6	2,8±1,8	p <0,01
Ficat 3					
Harris, бали	58,2±5,8	60,1±6,7	73,8±5,4	81,3±7,1	p<0,05
OHS, бали	14,2±6,1	23.1±8,7	26,8±6,6	26,4±7,3	p<0,05
VAS, см	9,7±0,3	7,2±2,1	6,5±1,9	4,8±2,5	p<0,05

*Примітка: * - достовірність відмінностей при p < 0,05*

Отже, у пацієнтів з асептичним некрозом головки стегнової кістки при першій стадії захворювання за Ficat вдалося отримати позитивні функціональні результати та знеболення вже через 3 місяці після проведеного лікування.

Отримали достовірно позитивні результати в усіх пацієнтів зазначеної групи через 12 місяців після лікування за усіма проаналізованими шкалами. Також позитивні результати отримали у пацієнтів при 2-й та 3-й стадії захворювання, але при 3-й стадії позитивна динаміка мала значно повільніший прогрес.

Аналіз динаміки результатів лікування пацієнтів з асептичним некрозом ділянки колінного суглоба представлено в таблиці 7.5.

Таблиця 7.5 – Динаміка клінічних показників пацієнтів з асептичним некрозом ділянки колінного суглоба на етапах спостереження залежно від стадії захворювання за Ficat за шкалами KOOS, OKS та ВАШ в групі №1 (Ficat 1), групі №2 (Ficat 2) та групі №3 (Ficat 3), M±σ*

	Період спостереження				Достовірність відмінностей при порівнянні з первинними даними (кореляція Пірсона)
	Первинні дані	3-й міс.	6-й міс.	12-й міс.	
Ficat 1					
KOOS, бали	29,1±8,4	43,9±8,7	62,4±7,9	73,1± 9,8	p<0,01
OKS, бали	24,8±8,5	29,3± 7,1	35,6± 6,7	39,8±8,2	p<0,01
VAS, см	7,6±1,4	3,5±1,8	2,8±1,6	1,3±0,6	p<0,01
Ficat 2					
KOOS, бали	27,9±7,8	41,7±8,4	49,1±7.9	67,5±9,4	p<0,05
OKS, бали	18,8±8,1	25,2±8,1	30,4±7,4	35,2±7,2	p<0,01
VAS, см	9,4±0,6	4,7±2,1	3,8±1,6	2,8±1,8	p <0,01
Ficat 3					
Harris, бали	25,2±8,8	36,4±10,7	43,8±9,4	54.3±12,1	p<0,05
OKS, бали	12,8± 5,9	21.9±8,9	25,8±7,1	24,9±6,8	p<0,05
VAS, см	9,6±0,4	7,9±2,9	6,8±2,4	5,3±2,8	p<0,05

*Примітка: * – достовірність відмінностей при p < 0,05*

Таким чином, при аналізі динаміки клінічних показників на етапах спостереження (до лікування, через 3, 6 та 12 місяців після лікування) за шкалами KOOS, OKS та ВАШ залежно від стадії захворювання за Ficat, встановлено, що позитивна динаміка при асептичному некрозі ділянки колінного суглоба, порівняно з асептичним некрозом кульшового суглоба проявляється більш повільно на етапах спостереження, але в термін через 12 місяців спостереження показники якості життя практично співставні.

Більш достовірним є покращення якості життя, а також знеболюючий ефект та покращення функції суглоба у пацієнтів з 1-ю та 2-ю стадією захворювання за Ficat.

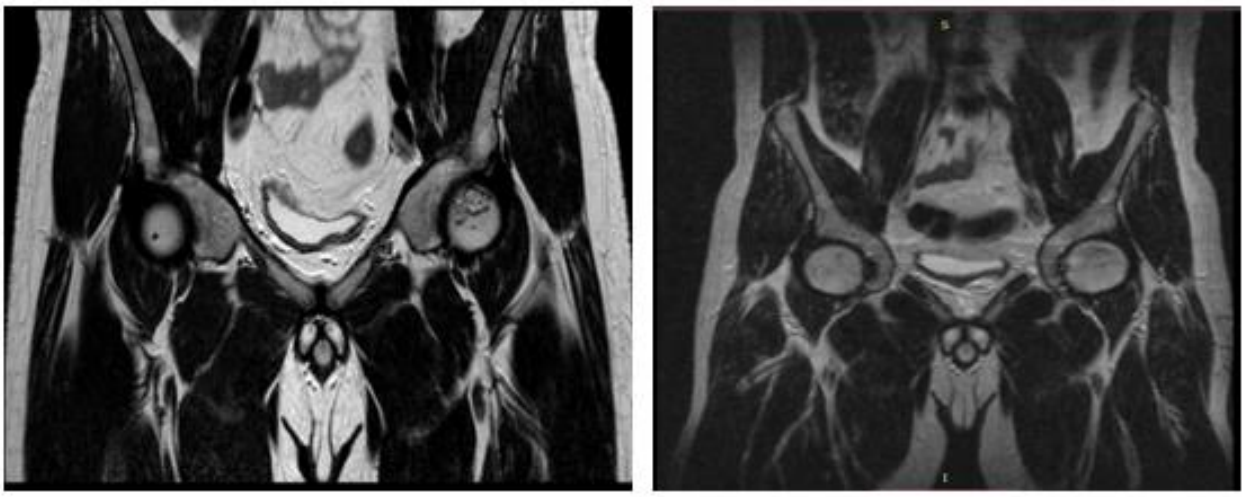
Наведемо приклади МРТ-динаміки у пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій.

На рис. 7.29 представлено МРТ кульшових суглобів пацієнтки Л., 35 років з асептичним некрозом головки лівої стегнової кістки, 2 стадія за Ficat, тип С2 за JIR (№ історії хвороби 568240) до оперативного втручання.

Рисунок 7.29 – МРТ кульшових суглобів пацієнтки Л., 35 років (№ історії хвороби 568240) з асептичним некрозом головки лівої стегнової кістки, 2 стадія за Ficat, тип С2 за JIR до лікування

На рис. 7.30 (а) представлено МРТ пацієнтки через 6 місяців після проведеного лікування, а саме, 6 внутрішньосуглобових ін'єкцій аутологічного кріолізату тромбоцитів та внутрішньокісткове введення аутологічної мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку. Спостерігається зменшення вогнища асептичного некрозу головки лівої стегнової кістки.

При контрольному МРТ через 12 місяців після лікування відмічається практично повна відсутність вогнища асептичного некрозу (рис. 7.30 (б)).



а) б)

Рисунок 7.30 – МРТ кульшових суглобів пацієнтки Л., 35 років (№ історії хвороби 568240) з асептичним некрозом головки лівої стегнової кістки через 6 місяців (а) та через 12 місяців (б) лікування за допомогою регенеративних інтервенційних технологій (пояснення в тексті)

Представимо МРТ колінного суглоба в динаміці пацієнтки Б. (№ історії хвороби 547723) з асептичним некрозом медіального виростка стегнової кістки, Ficat 1 (рис. 7.31 а-в).

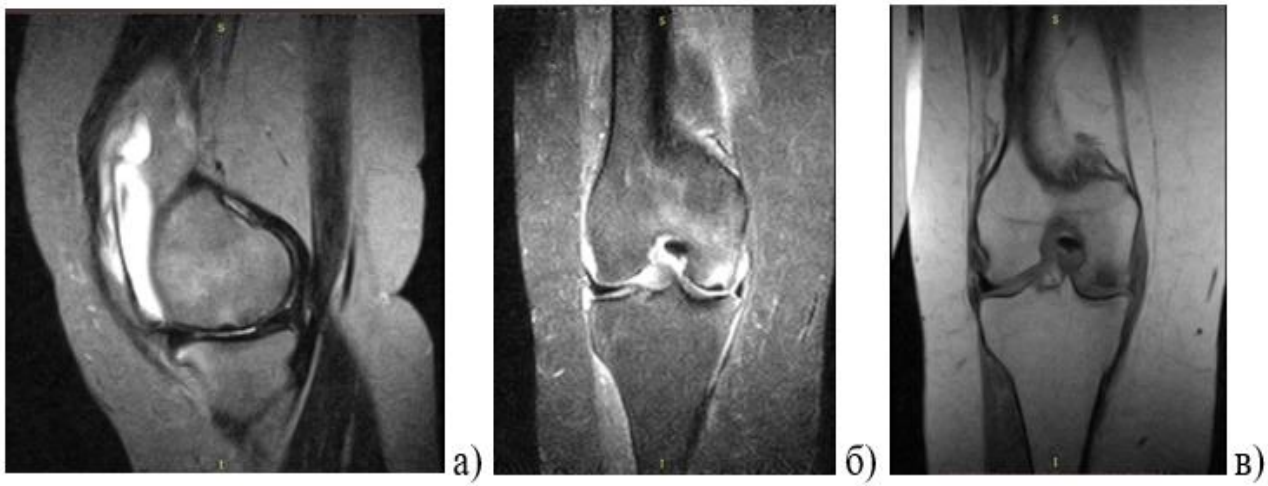


Рисунок 7.31 – МРТ правого колінного суглоба пацієнтки Б., 52 роки (№ історії хвороби 547723) з асептичним некрозом медіального виростка стегнової кістки, Ficat 1, до лікування за допомогою регенеративних технологій

Пацієнтці було виконано 6 внутрішньосуглобових ін'єкцій аутологічного кріолізату тромбоцитів та внутрішньокісткове введення аутологічної мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку. На рис. 7.32 (а-в) представлено динаміку змін МРТ через 12 місяців після лікування. Відмічається практично повна відсутність вогнища асептичного некрозу.

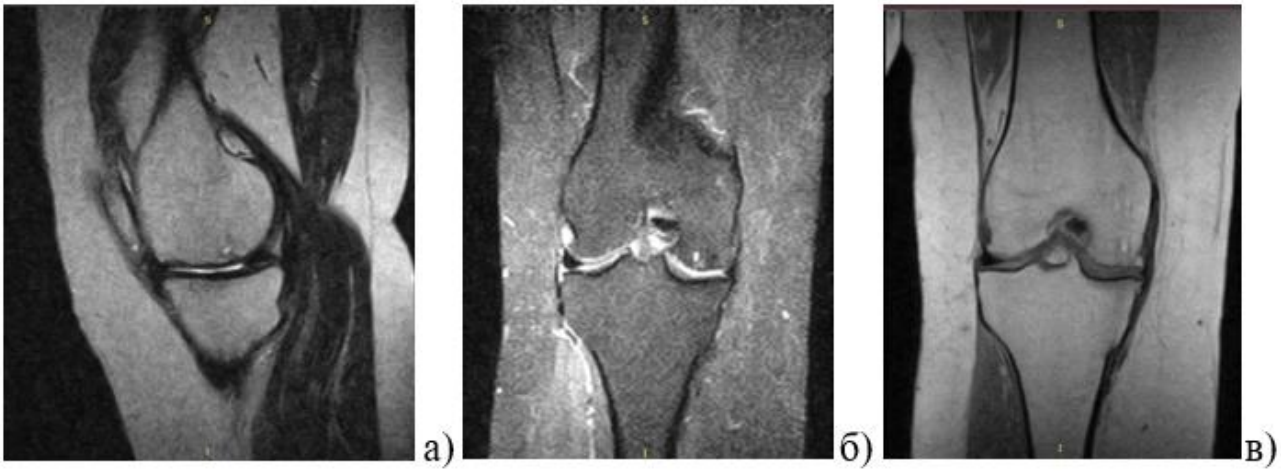
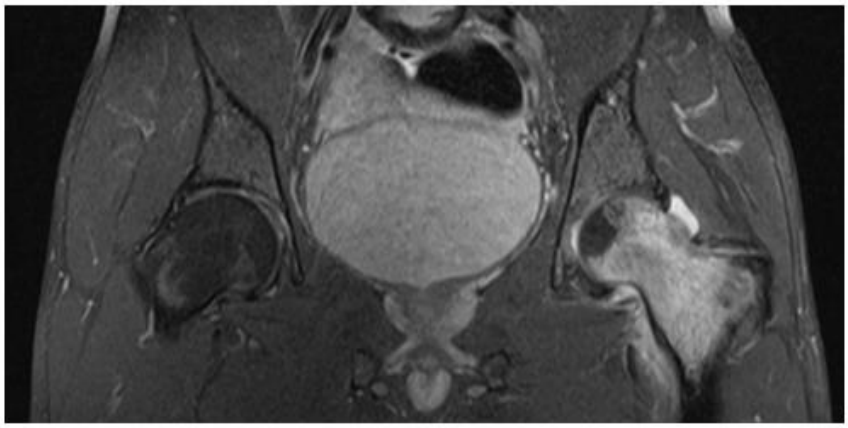
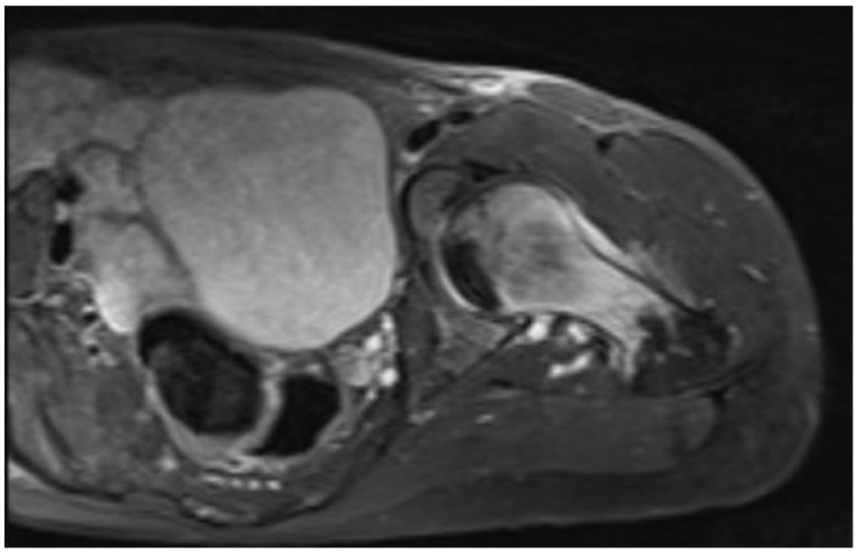


Рисунок 7.32 – МРТ правого колінного суглоба пацієнтки Б., 52 роки (№ історії хвороби с547723) з асептичним некрозом медіального виростка правої стегнової кістки, Ficat 1, через 12 місяців після лікування за допомогою регенеративних інтервенційних технологій (пояснення в тексті)

На рис. 7.33 (а-б) представлено МРТ пацієнта М., 23 роки, з асептичним некрозом головки лівої стегнової кістки, стадія Ficat 1, тип С2 за JIC (№ історії хвороби 553232) до лікування.



а)

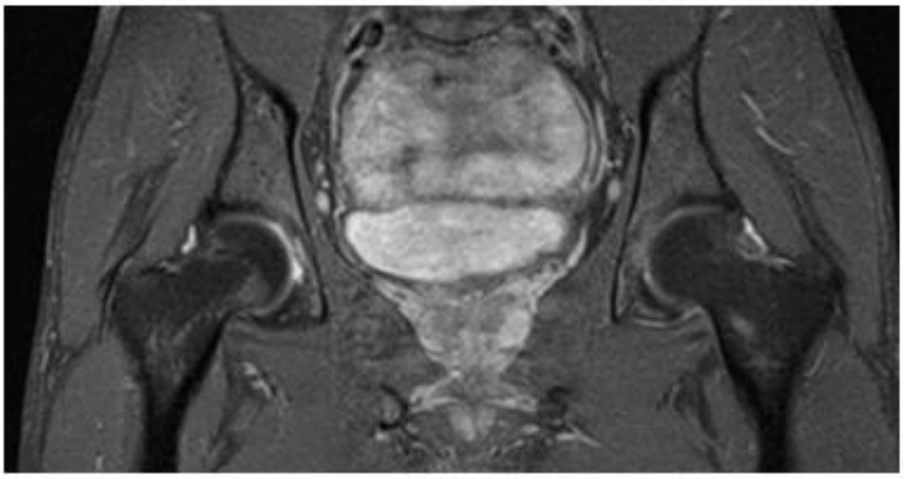


б)

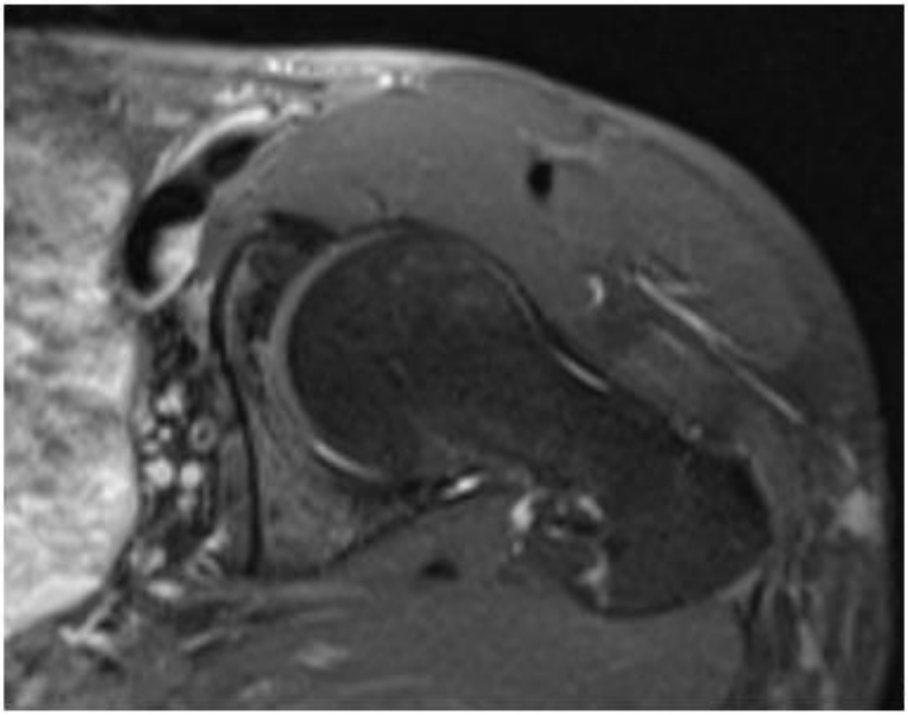
Рисунок 7.33 (а,б) – МРТ кульшових суглобів пацієнта М., 23 роки (№ історії хвороби 553232) з асептичним некрозом головки лівої стегнової кістки, 1 стадія за Ficat, тип С2 за JIR до лікування (пояснення в тексті)

Пацієнту на першому етапі виконано 3 внутрішньосуглобових введення лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми, другим етапом виконано тунелізацію проксимального відділу лівої стегнової кістки з субхондральним введенням мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку.

На рис. 7.34 (а,б) представлено результат контрольного МРТ-обстеження через 10 місяців після лікування.



а)



б)

Рисунок 7.34 (а,б) – МРТ кульшових суглобів пацієнта М., 23 роки (№ історії хвороби 553232) з асептичним некрозом головки лівої стегнової кістки, 1 стадія за Ficat, тип С2 за JIR через 10 місяців після лікування за допомогою регенеративних інтервенційних технологій (пояснення в тексті)

На рисунку 7.35 (а, б) представлено МРТ лівого колінного суглоба пацієнтки К., 34 роки (№ історії хвороби 601749), з асептичним некрозом латерального виростка лівої стегнової кістки, стадія Ficat, 2 до лікування.

а)

б)

Рисунок 7.35 (а, б) – МРТ лівого колінного суглоба пацієнтки К., 34 роки (№ історії хвороби 601749) з асептичним некрозом латерального виростка лівої стегнової кістки, Ficat 2, до лікування (пояснення в тексті)

На рисунку 7.36 (а, б) представлено результати МРТ даної пацієнтки

через 12 місяців після курсу лікування за допомогою регенеративних інтервенційних технологій, а саме шестиразового внутрішньосуглобового введення аутологічного кріолізату тромбоцитів з інтервалом 1 раз на тиждень та подальшою тунелізацією латерального виростка лівої стегнової кістки з введенням мононуклеарної фракції аутологічного аспірату кісткового мозку в зону асептичного некрозу.

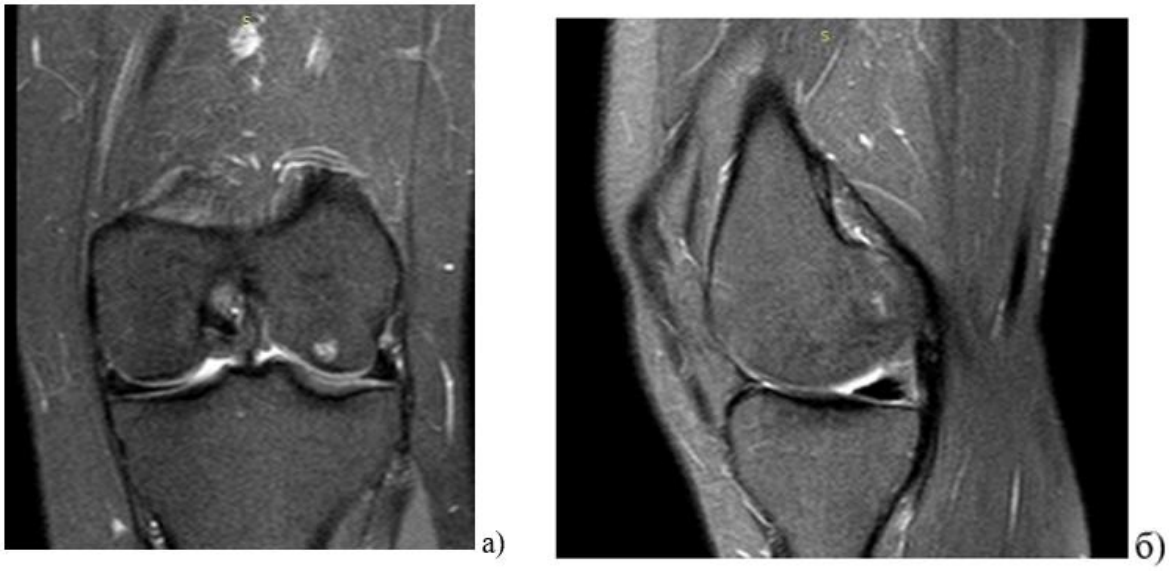


Рисунок 7.36 (а, б) – МРТ лівого колінного суглоба пацієнтки К., 34 роки (№ історії хвороби 601749) з асептичним некрозом латерального виростка лівої стегнової кістки, Ficat 2, через 12 місяців після лікування за допомогою регенеративних інтервенційних технологій (пояснення в тексті)

Відмічаємо практично повну відсутність зони асептичного некрозу через 12 місяців після лікування на наведеному МРТ-обстеженні.

7.3 Концептуальні засади персоналізованого підходу до застосування регенеративних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів

За результатами проведених нами досліджень персоналізований підхід до застосування регенеративних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів повинен враховувати не лише діагноз пацієнта, але й вибір того чи іншого біотехнологічного продукту для лікування або їх комбінації. Тому ключовими ланками у ньому є методологія обстеження пацієнта та визначення якості та безпеки біотехнологічного продукту. Крім того, ці два напрямки повинні застосовуватися паралельно.

Персоналізований підхід до застосування регенеративних технологій у пацієнтів з остеоартрозом.

Для пацієнтів з остеоартрозом ми виділили наступні параметри персоналізації:

1. Визначення рентгенологічної стадії остеоартрозу

2. Встановлення переважання фенотипу остеоартрозу

- фенотип з переважанням хронічного больового синдрому з центральною сенсибілізацією;
- фенотип з переважанням запального компоненту (переважає локальна симптоматика);
- фенотип з переважанням метаболічного синдрому;
- фенотип з переважанням порушення метаболізму кісток та хряща (коли зміни при обєктивних методах дослідження превалюють над клінічною симптоматикою) ;
- фенотип мінімальних змін у суглобі
- механічний фенотип- переважають порушення біомеханіки суглоба (обмеження рухів, деформації, значні зміни в геометрії суглобів)

3. Очікування пацієнта від лікування

- зниження інтенсивності больового синдрому
- покращення функції суглоба
- повернення до активності після лікування (на рівні побутової активності чи спортивної або професійної активності)

- очікування термінів настання позитивного ефекту

- відношення пацієнта до запропонованого лікування за допомогою регенеративних технологій та класичних методів лікування.

4. Результати лабораторного обстеження для визначення протипоказань до застосування регенеративних технологій:

- загальний аналіз крові

- біохімічний аналіз крові (за потреби)

- ревмопроби (за потреби)

- епігенетичне дослідження крові (за потреби).

5. Дані анамнезу життя

- професія

- наявність генетичної схильності до остеоартрозу

- наявність супутньої патології (захворювання, яке може бути тригером для розвитку та прогресування остеоартрозу)

- вік пацієнта

6. Вибір варіанту біотехнологічного продукту або їх комбінації.

7. Результати опитування щодо якості життя з використанням різних шкал:

- зниження якості життя згідно даних опитувальників до 20%;

- зниження якості життя згідно даних опитувальників 20%-50%;

- зниження якості життя згідно даних опитувальників понад 50%.

8. Результати додаткових методів дослідження (МРТ або УЗД) для визначення внутрішньосуглобових та парасуглобових змін.

- пошкодження внутрішньосуглобових структур (меніски, суглобова губа, хрестоподібна зв’язка, суглобовий хрящ, синовіальна рідина тощо);

- оцінка стану парасуглобових структур;

- оцінка кісткових змін (наявність набряку кісткового мозку, некротичні зміни кісткового мозку, наявність кісткових дефектів- зокрема внутрішньокісткових кист, субходральних зламів, тощо).

На підставі зазначених параметрів нами виділено наступні етапи персоналізованого підходу до застосування регенеративних технологій у пацієнтів з остеоартрозом (рис. 7.37-7.41). На першому етапі відбору визначаємо рентгенологічну стадію ОА за класифікацією J.H. Kellgren та J.S. Lawrence (рис. 7.37):

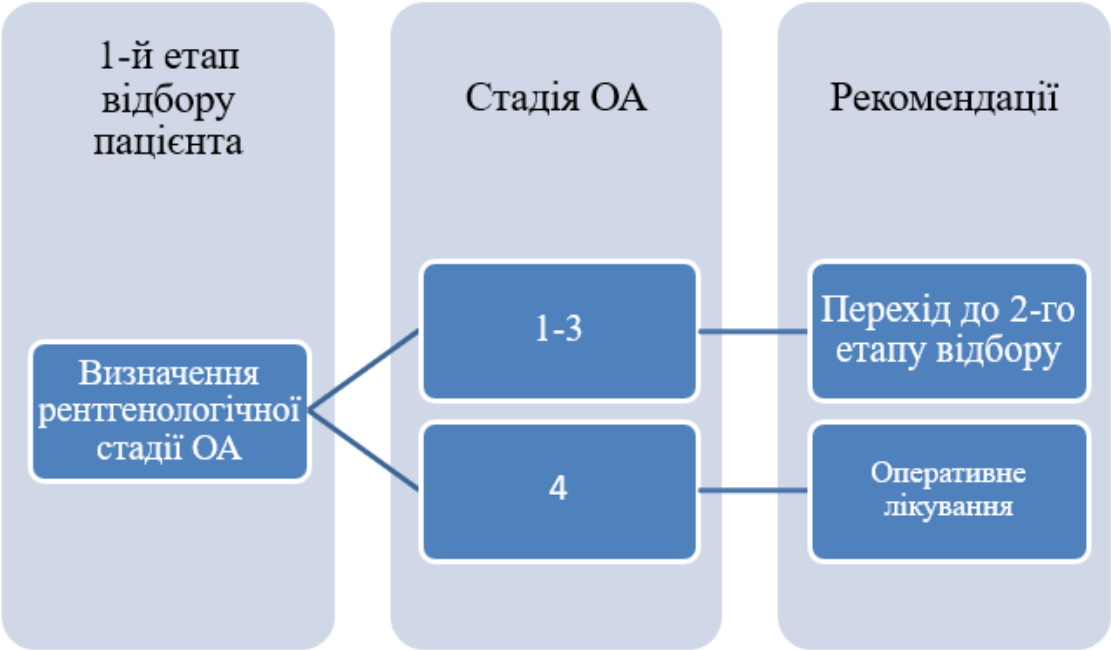


Рисунок 7.37 – Схема алгоритму 1-го етапу відбору пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів (визначення рентгенологічної стадії ОА) для лікування за допомогою регенеративних інтервенційних технологій

Так, за результатами 1-го етапу відбору, пацієнти з 4-ю стадією остеоартрозу були критерієм виключення з нашого дослідження. У зазначеній групі пацієнтів застосування PIT ймовірно буде неефективним у зв’язку з відсутністю субстрату для їх дії. Дані літератури свідчать про недостатню вивченість результатів їх застосування у таких пацієнтів [288-291], а в деяких випадках про ймовірність погіршення якості життя у них [292].

В той же час деякі дослідження свідчать про перспективність застосування регенеративних технологій навіть у пацієнтів з 4-ю стадією

остеоартрозу [293]. На нашу думку це питання потребує більш детального вивчення, а можливо навіть проведення клінічних досліджень у майбутньому. Тому пацієнтам з 4-ю стадією ОА ми рекомендували віддавати перевагу ендопротезуванню суглоба (рис. 7.37).

Наступним етапом відбору було визначення переважання фенотипу ОА (рис. 7.38):

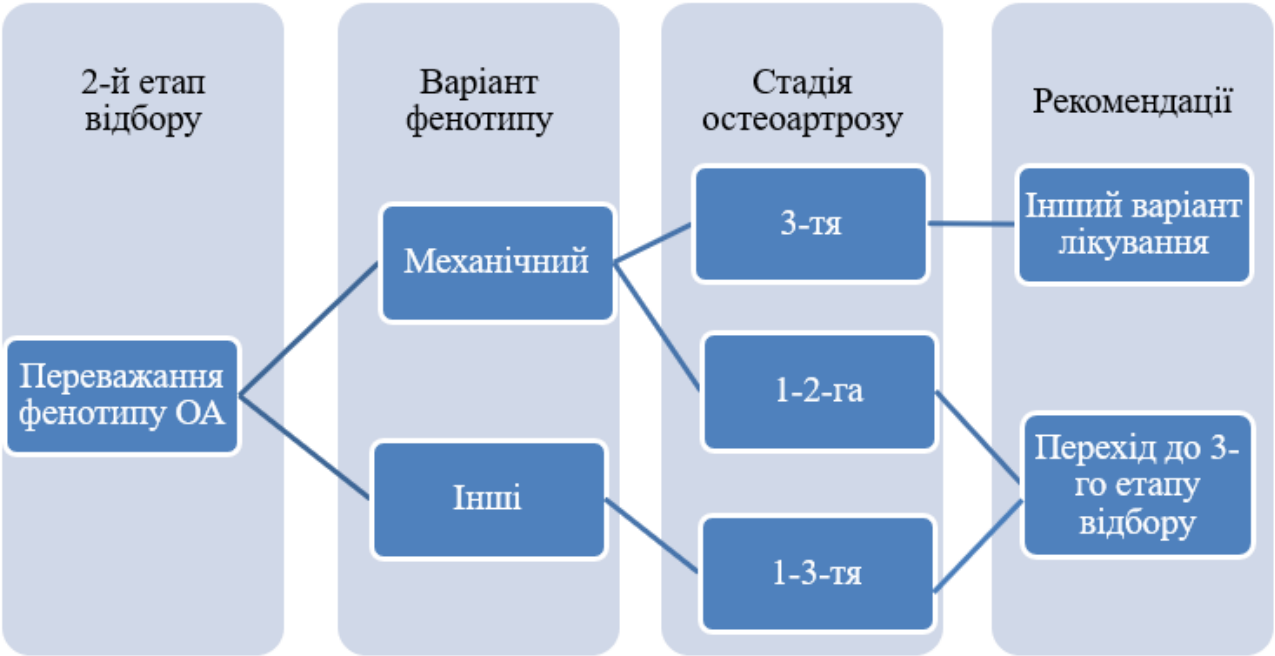


Рисунок 7.38 – Схема алгоритму 2-го етапу відбору пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів (визначення переважання фенотипу ОА) для лікування за допомогою регенеративних технологій

Концепція фенотипів остеоартрозу та їх впливу на прогнозування та тактику лікування активно розвивається останніми роками [294-297]. Розрізняють 6 основних фенотипів ОА залежно від переважання симптомів [294]: фенотип з переважанням хронічного больового синдрому з центральною сенсибілізацією, фенотип з переважанням запального компоненту (переважає локальна симптоматика), фенотип з переважанням проявів метаболічного

синдрому, фенотип з переважанням порушення метаболізму кісток та хряща (коли зміни при обєктивних методах дослідження превалюють над клінічною симптоматикою), механічний фенотип - переважають порушення біомеханіки суглоба (обмеження рухів, деформації, значні зміни в геометрії суглобів), фенотип мінімальних змін. Надзвичайно актуальною ця концепція є в тому числі і з огляду на застосування регенеративних технологій у лікуванні остеоартрозу [298]. Пацієнтам з 3-ю стадією ОА та механічним фенотипом, коли переважають зміни біомеханіки суглоба ми також рекомендували віддавати перевагу ендопротезуванню суглоба (див. рис. 7.38).

Наступним етапом відбору було визначення очікувань самого пацієнта від застосування регенеративних технологій (рис. 7.39):

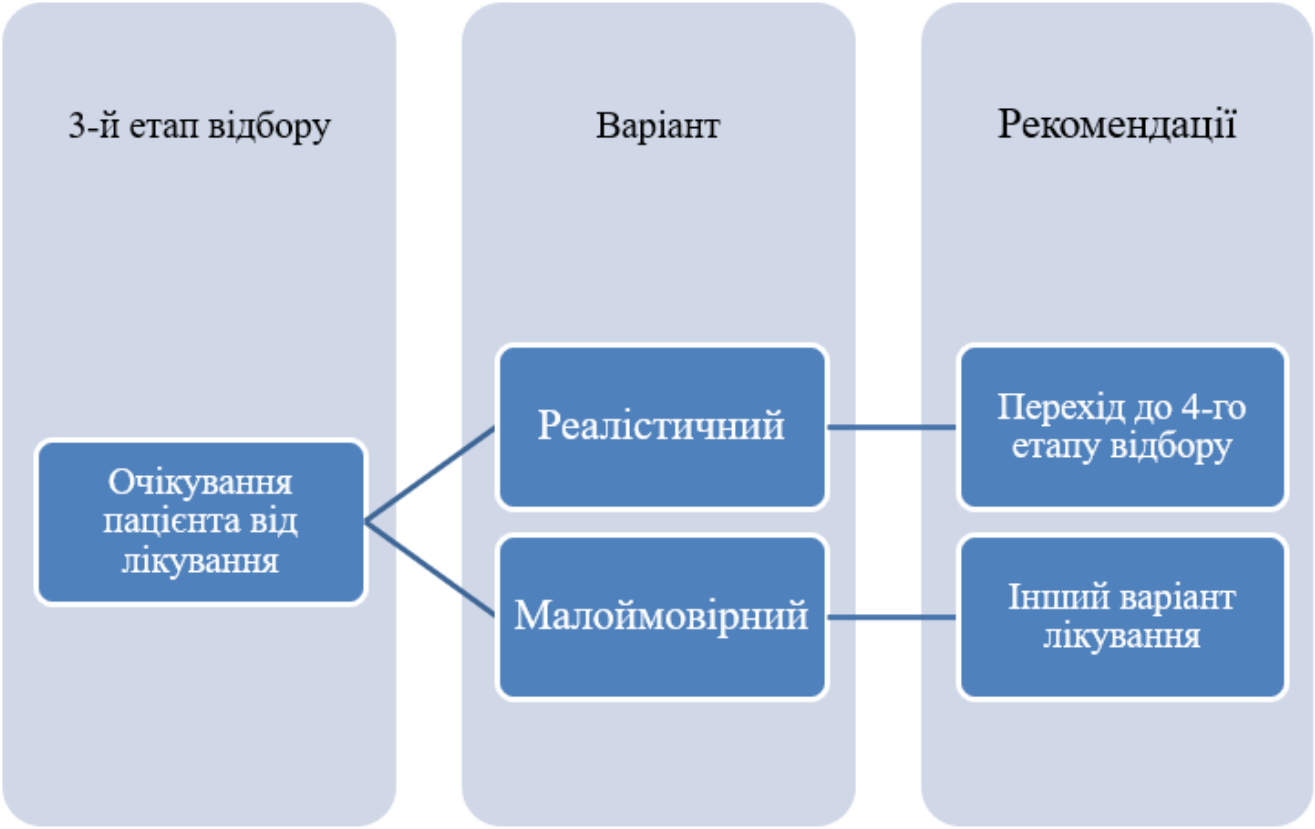


Рисунок 7.39 - Схема алгоритму 3-го етапу відбору пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів (визначення очікувань пацієнта від лікування) для лікування за допомогою регенеративних технологій

Очікування пацієнта від лікування за допомогою регенеративних технологій є важливим моментом при їх відборі для застосування регенеративних технологій [299]. В деяких випадках вони вже мають негативний досвід, наприклад, лікування методом плазмотерапії, в інших випадках мають стурбованість стосовно ускладнень лікування (в більшості випадків у зв'язку з онконастороженністю та ризиками при заборі біологічного матеріалу), а у деяких випадках мають завищені очікування стосовно застосування методик. Тому на даному етапі відбору важливо чітко обговорити з пацієнтом можливості регенеративних технологій та розповісти про власний досвід ускладнень та побічної дії біотехнологічних продуктів. Якщо очікування пацієнта від застосування тієї чи іншої методики є малоймовірними, ми рекомендуємо виключати їх з подальшого відбору та застосовувати інший метод лікування (рис. 7.39).

Наступним етапом відбору є визначення іншого напрямку персоналізації, пов'язаного саме з вибором біотехнологічного продукту, а саме лабораторне обстеження пацієнта (рис. 7.40). Оскільки на першому етапі лікування ми рекомендуємо застосовувати концентрати клітин периферичної крові, ключовим аналізом для відбору пацієнта на даному етапі є загальний аналіз крові. Як ми вже зазначали, за необхідності (наявність хронічних захворювань, таких, як цукровий діабет, загострення хронічних захворювань внутрішніх органів тощо) рекомендували проведення біохімічного аналізу крові та ревмопроб (при підозрі на аутоімунний патологічний процес). Пацієнтам з наявністю у спадковому анамнезі онкологічних захворювань рекомендували проведення онкоскринінгу шляхом епігенетичного дослідження (визначення мікроРНК).

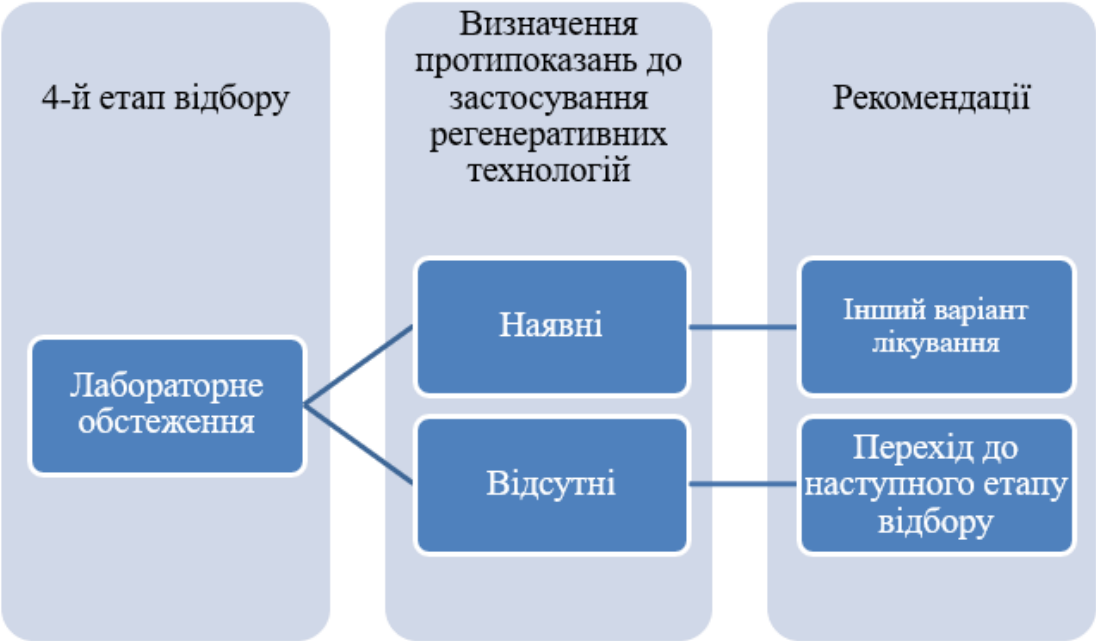


Рисунок 7.40 – Схема алгоритму 4-го етапу відбору пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів (аналіз результатів лабораторного обстеження) для лікування за допомогою регенеративних технологій

Без сумніву, абсолютними протипоказаннями до застосування аутологічних регенеративних технологій є неможливість виготовлення біотехнологічного продукту через наявність у пацієнта ряду захворювань крові (критична тромбоцитопенія, синдром дисфункції тромбоцитів, тощо), кісткового мозку, зокрема онкологічні захворювання кровотворної системи в гострому періоді, наявність гострих системних інфекційних станів (сепсис, септицемія) [2, 23, 241]. Всі інші стани – наявність онкологічних захворювань, не пов’язаних з кров'ю та кровотворною системою, проведення системної цитостатичної терапії, наявність гострих локальних запальних процесів асептичного характеру є відносними протипоказаннями та повинні оцінюватися персоналізовано у кожному випадку [22, 241, 300]. Таким чином, відсутність можливості виготовлення біотехнологічного продукту через зміни в лабораторних аналізах є критерієм виключення пацієнта з подальшого відбору (див. рис. 7.40).

Наступним і остаточним етапом відбору пацієнта перед складанням плану лікування є оцінка додаткових факторів впливу, таких як вік, наявність супутніх захворювань, які не були враховані на попередніх етапах відбору, характер планованих навантажень, спадковий фактор, інформування пацієнта щодо можливого прогнозу лікування, а також отримання згоди пацієнта (рис. 7.41).

За умови надання пацієнтом згоди на лікування переходимо до наступних етапів персоналізації, які передбачають складання плану лікування та включають в себе вибір біотехнологічного продукту або їх комбінації, аналіз результатів опитування щодо якості життя з використанням різних шкал та аналіз результатів додаткових методів дослідження (МРТ або УЗД) для визначення внутрішньосуглобових та парасуглобових змін.

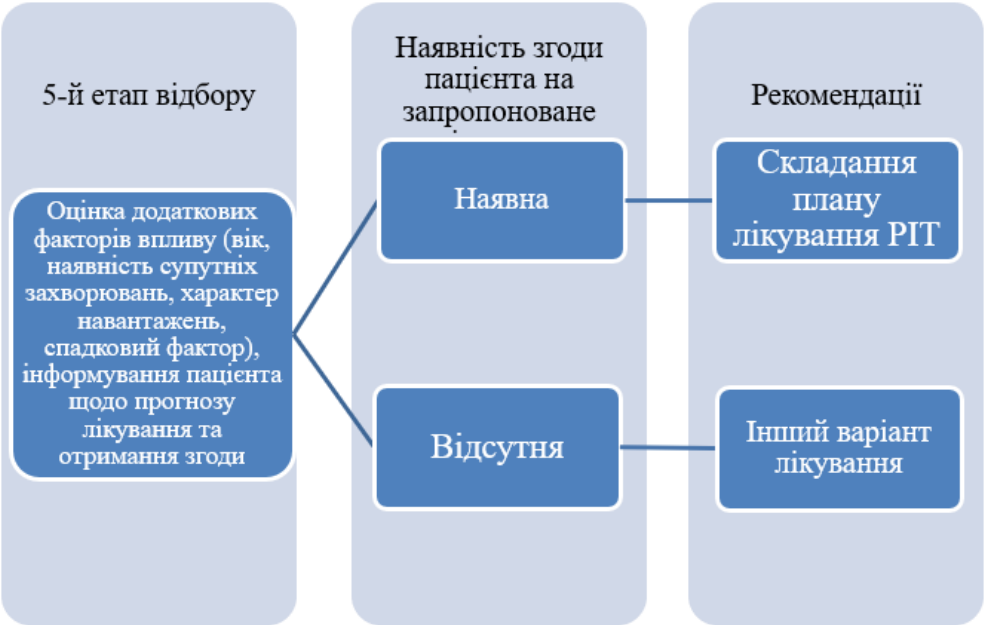


Рисунок 7.41 – Схема алгоритму 5-го етапу відбору пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів (оцінка додаткових факторів впливу - вік, наявність супутніх захворювань, характер навантажень, спадковий фактор, інформування пацієнта щодо можливих побічних дій та ускладнень та отримання згоди) для лікування за допомогою регенеративних технологій

Нами запропоновано наступні алгоритми регенеративної ін’єкційної терапії залежно від стадії остеоартрозу (рис. 7.42–7.44).

Таким чином, у пацієнтів з 1-ю стадією остеоартрозу при зниженні показників якості життя до 20% згідно опитувальників, а також більше 20%, але за умови відсутності внутрішньосуглобових та парасуглобових ушкоджень згідно даних МРТ або УЗД, ми рекомендуємо медикаментозне лікування та фізичну терапію. За відсутності ефекту від зазначеного лікування у цій групі пацієнтів, а також у пацієнтів при зниженні показників якості життя понад 20% та наявності внутрішньосуглобових та (або) парасуглобових ушкоджень рекомендуємо внутрішньосуглобове введення тромбоконцентратів, як перший етап лікування – 6 ін'єкцій з інтервалом 1раз на 1-2 тижні (див. рис. 7.42).

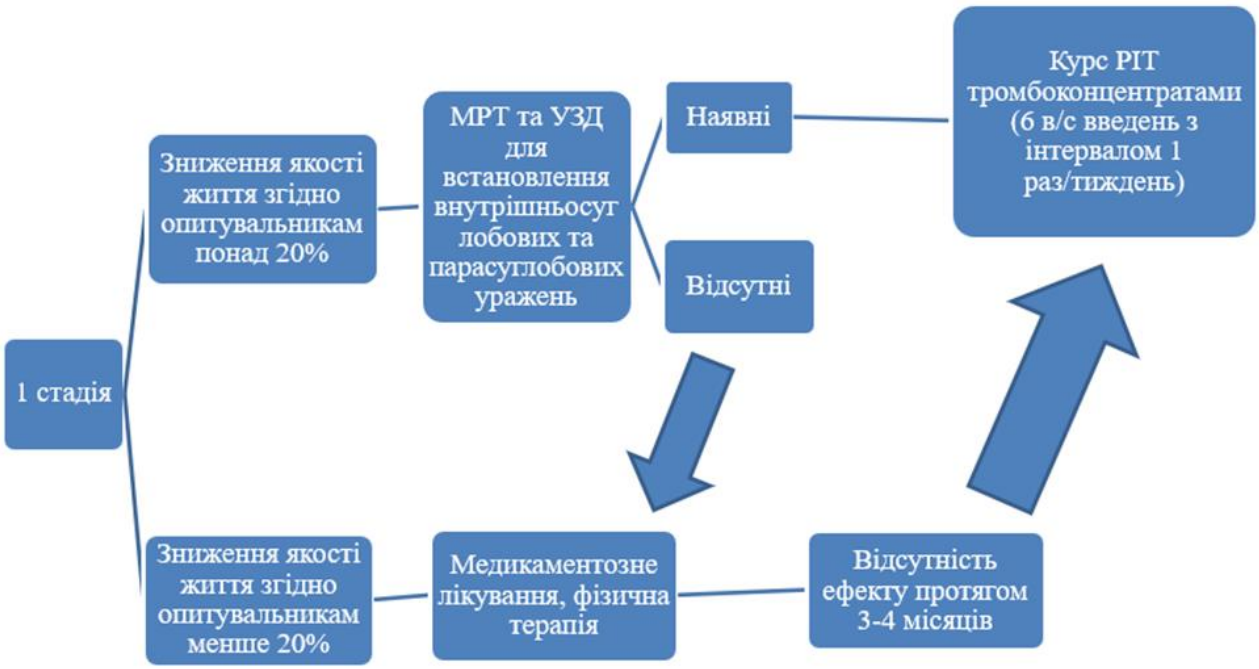


Рисунок 7.42 – Схема алгоритму регенеративної ін’єкційної терапії у пацієнтів з 1-ю стадією остеоартрозу (пояснення в тексті)

У пацієнтів з 2-ю стадією остеоартрозу рекомендуємо наступний алгоритм (рис. 7.43).

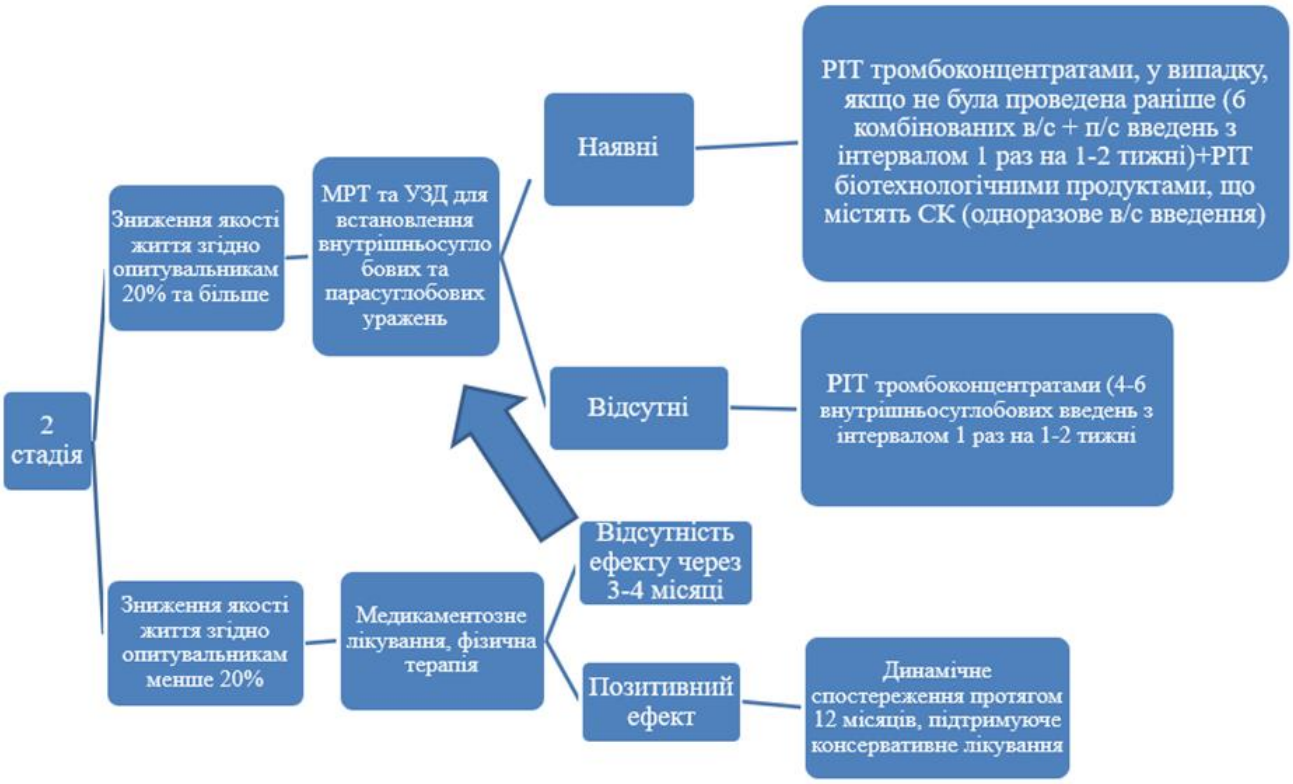


Рисунок 7.43 – Схема алгоритму регенеративної ін’єкційної терапії у пацієнтів з 2-ю стадією остеоартрозу (пояснення в тексті)

Отже, у пацієнтів з 2-ю стадією остеоартрозу при зниженні показників якості життя до 20% також рекомендуємо медикаментозне лікування та фізичну терапію, як і у пацієнтів з 1-ю стадією остеоартрозу. За відсутності ефекту від зазначеного лікування у цій групі пацієнтів, а також у пацієнтів при зниженні показників якості життя 20% та більше, рекомендуємо виконувати МРТ та УЗД для встановлення внутрішньосуглобових та парасуглобових ушкоджень. За їх відсутності рекомендуємо проводити РІТ концентратами периферичної крові в режимі 4–6 внутрішньосуглобових введення з інтервалом 1 раз на 1–2 тижні. За наявності таких ушкоджень рекомендуємо комбіновану РІТ концентратами

периферичної крові в режимі 4–6 внутрішньосуглобових та парасуглобових введення. Другим етапом рекомендуємо одноразове внутрішньосуглобове введення біотехнологічного продукту, що містить стовбурові клітини (СК) (концентрати аутологічного аспірату кісткового мозку або жирової тканини) (див. рис. 7.43).

Пацієнтам з першою та другою стадією остеоартрозу рекомендуємо виключити спортивні навантаження на весь період лікування та протягом 1 місяця після завершення лікування. Навантаження в побуті дозволяються в повному обсязі. Через 1 місяць після завершення лікування рекомендуємо фізичну реабілітацію шляхом комплексу вправ для м'язів нижньої кінцівки, занять в басейні та на велотренажері. Рекомендуємо виключити прийом нестероїдних протизапальних препаратів на увесь період лікування та протягом 1 місяця після його завершення.

На рис. 7.44 представлено алгоритм застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з 3-ю стадією остеоартрозу. Таким чином, у пацієнтів з 3-ю стадією остеоартрозу при зниженні показників якості життя до 20% рекомендуємо комбіноване введення аутологічних концентратів периферичної крові в режимі 4-6 внутрішньосуглобових та парасуглобових введення 1 раз на 1–2 тижні. При зниженні показників якості життя на 20% та більше рекомендуємо виконувати МРТ та УЗД для діагностики субхондральних ушкоджень. За їх відсутності рекомендуємо проводити PIT тромбоцитарно-лейкоцитарними концентратами периферичної крові в режимі 6 комбінованих внутрішньосуглобових та парасуглобових введення з інтервалом 1 раз на тиждень та другим етапом виконувати внутрішньосуглобове введення продукту, що містить СК. При наявності субхондральних уражень на другому етапі рекомендуємо поєднання внутрішньо суглобового та субхондрального введення біотехнологічного продукту, що містить СК (концентрати аутологічного аспірату кісткового мозку або жирової тканини) (див. рис. 7.44).

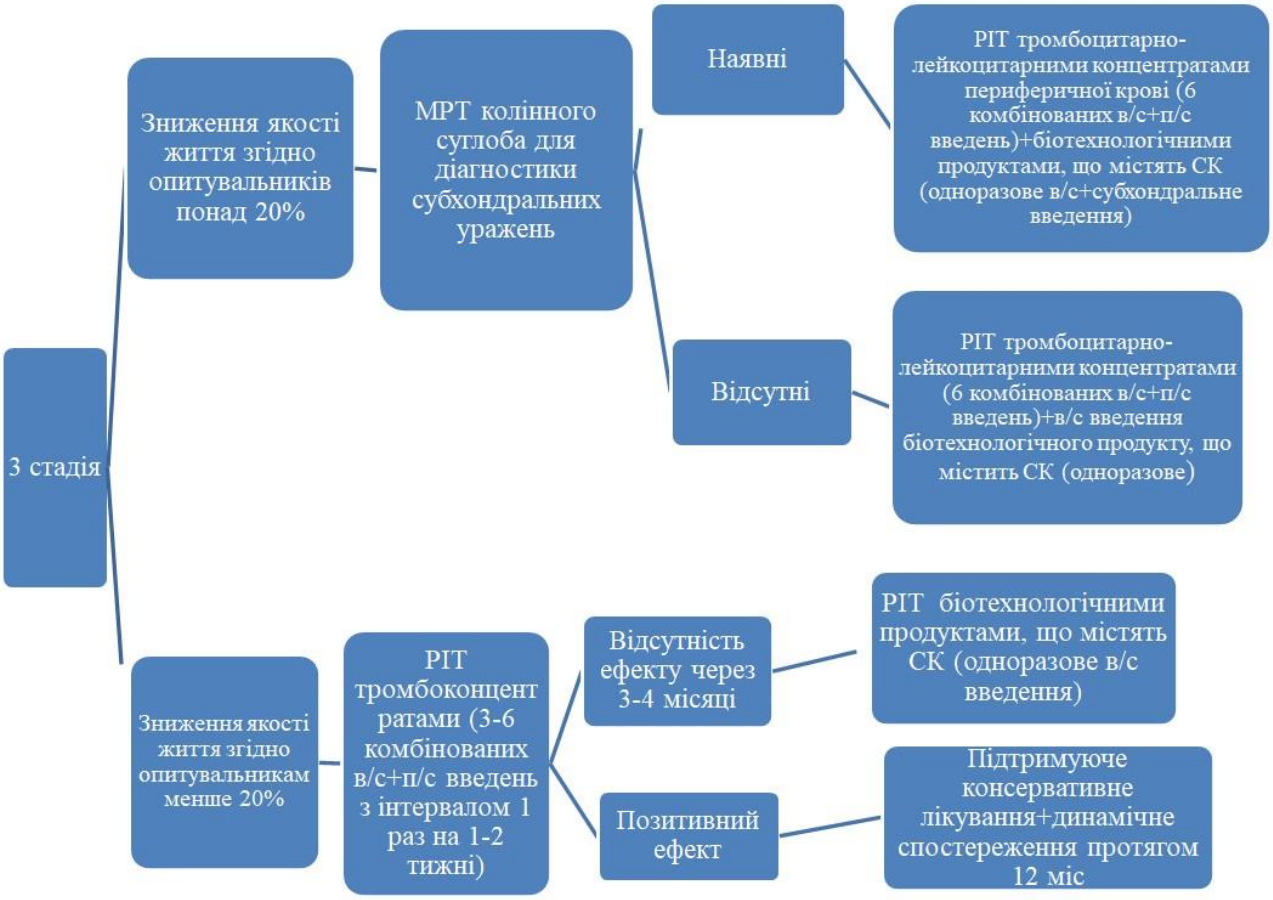


Рисунок 7.44 – Схема алгоритму регенеративної ін’єкційної терапії у пацієнтів з 3-ю стадією остеоартрозу (пояснення в тексті)

Пацієнтам з третьою стадією остеоартрозу рекомендуємо дозоване навантаження (хода з додатковою опорою) на весь період лікування та протягом 1 місяця після завершення лікування. Рекомендуємо виключити складні навантаження в побуті (присідання, хода сходами тощо). Через 1 місяць після завершення лікування рекомендуємо фізичну реабілітацію шляхом комплексу вправ для м'язів нижньої кінцівки та занять в басейні. Рекомендуємо обмежити прийом нестероїдних протизапальних препаратів на увесь період лікування та протягом 1 місяця після його завершення.

Особливості персоналізованого підходу до застосування регенеративних технологій у пацієнтів з асептичним некрозом на прикладі асептичного некрозу головки стегнової кістки. Згідно результатів наших

досліджень при асептичному некрозі для вирішення питання про тактику застосування регенеративних технологій ключовим методом обстеження є МРТ.

Для оцінки ушкодження кульшового суглоба ми використовували класифікацію Japanese Investigation Committee [265]. Рекомендуємо наступний підхід до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з асептичним некрозом головки стегнової кістки:

- При типі А ризик руйнування головки відсутній – рекомендуємо внутрішньосуглобову PIT концентратами периферичної крові з подальшим внутрішньосуглобовим введенням біотехнологічних продуктів, що містять СК, оскільки асептичний некроз супроводжується не лише ураженням кістки, але й ушкодженням суглобового хряща, а для типу А характерне субхондральне ушкодження кістки невеликої площі;
- При типі В ризик руйнування складає близько 10% – рекомендуємо попереднє внутрішньосуглобове введення концентратів периферичної крові з подальшим внутрішньокістковим введенням СК в зону некрозу, оскільки для типу В характерне більше по площі субхондральне вогнище, яке потребує терапевтичного впливу;
- При типі С1 ризик руйнування складає близько 30% – рекомендуємо попереднє введення концентратів периферичної крові з розвантаженням суглоба та подальше внутрішньокісткове введення СК в зону некрозу. У таких пацієнтів наявне ураження субхондральної кістки та суглобового хряща в більшій частині навантажувальної поверхні суглоба. Тому рекомендуємо ходу на милицях для максимального розвантаження ушкодженого суглоба та зменшення ризику колапсу головки стегнової кістки;
- При типі С2 ризик руйнування складає близько 70% – рекомендуємо доопераційне та післяопераційне введення концентратів периферичної крові з внутрішньокістковим та внутрішньосуглобовим введенням СК в зв'язку з тотальним ураженням головки стегнової кістки.

РОЗДІЛ 8
УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У цій роботі ми провели дослідження регенеративних технологій та результатів їх застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів. В 2016 році на XVII з'їзді ортопедів-травматологів України нами вперше було запропоновано класифікацію біотехнологічних продуктів, саме з огляду на застосування у клінічній практиці травматології та ортопедії, згідно чого ми поділили усі зазначені продукти на 5 груп – стимулюючі засоби небіологічного походження, концентрати периферичної крові, концентрати аспірату кісткового мозку та жирової тканини, біотехнологічні продукти з культивованих клітин та фармпрепарати на основі клітинних продуктів [301]. Після апробації зазначеної класифікації, ми оприлюднили її в одній з наших робіт [242]. Згодом зазначений розподіл біотехнологічних продуктів знайшов відображення у чинному законодавстві України [302-303], яке відносить перші три групи біотехнологічних продуктів, відображених у нашій класифікації до мінімально маніпульованих, а четверту та п'яту – до лікарських засобів передової терапії. У нашому дослідженні ми акцентували увагу та вивчали саме мінімально маніпульовані біотехнологічні продукти, застосування яких передбачає відсутність зміни біологічних властивостей тканин та клітин внаслідок обробки, а отже виключає ризики, пов'язані зі зміною характеристик продукту відповідно до чинного законодавства України.

Особливістю методології застосування регенеративних технологій, як методу лікування, є не лише потреба у обстеженні та визначенні стану пацієнта, але і у дослідженні біотехнологічного продукту, що використовується для терапевтичного впливу. У зв’язку з цим, ми розділили наше дослідження на два напрямки - фундаментальний, де шляхом експериментальних досліджень *in*

vitro дослідили власне характеристики біотехнологічних продукти та механізм їх впливу на регенерацію тканин, та клінічний, де розробили методологію обстеження пацієнтів, методики та технології застосування регенеративних технологій та проаналізували результати їх застосування у досліджуваних пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

Щодо фундаментального напряму, що представлений у розділі 3, методологія *in vitro* дослідження біотехнологічних продуктів складалася з вивчення регенеративних ефектів біотехнологічних продуктів на прикладі збагаченої тромбоцитами плазми та її похідних на метаболізм моноцитів аутологічної периферичної крові людини, визначення рівня індукторів TGF-β1 у збагаченій тромбоцитами плазмі та дослідженні вмісту клітин крові у лейкоцитарній та збідненій на лейкоцити плазмі у пацієнтів із патологією опорно-рухового апарату. Окрім того ми вивчали біосумісність різних варіантів скаффолдів та клітин людини, а також вплив мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на прикладі концентратів периферичної крові на цю біосумісність.

Так, моноцити відіграють фундаментальну роль у розвитку та прогресуванні остеоартрозу шляхом участі у запальних реакціях та здатності диференціюватися в остеокласти, які резорбують кістку [304]. У літературі виділяють два основні фактори, які є провідними у розвитку та прогресуванні остеоартрозу – це порушення функції кісткового мозку та запалення асептичного характеру [305]. З віком людини резорбція кістки починає переважати над її утворенням. Це призводить до прогресуючої втрати трабекулярної кісткової структури та дисбалансу клітинного імунітету, що впливає на гомеостаз кістки [306].

Донедавна вважалося, що єдиною причиною остеоартрозу є механічне руйнування суглобового хряща з пошкодженням субхондральної кістки по усій поверхні суглоба [307]. Проте сьогодні відомо, що другим ключовим фактором

у розвитку та прогресуванні остеоартрозу є хронічне асептичне запалення [308-309], яке має значний вплив на кістковий метаболізм.

У цей процес залучені численні клітини та тканини суглоба, такі як хондроцити, синовіоцити, а також клітини субхондральної кістки, такі як остеокласти, попередники остеокластів, остеобласти тощо [310].

Враховуючи вищезазначене, отримані нами дані щодо впливу концентратів периферичної крові на протизапальну поляризацію моноцитів людини *in vitro* вказують, що одним з механізмів терапевтичної дії біотехнологічних продуктів при захворюваннях суглобів є саме їх прорегенративний вплив на асептичне запалення [187].

Стосовно актуальності дослідження TGF-β, слід зазначити, що цей цитокін є важливим для регуляції гомеостазу суглоба. У суглобовому хрящі передача сигналів TGF-β індукується навантаженням і відіграє важливу роль у життєдіяльності хондроцитів та послабленні запалення [311].

Концентрація TGF-β у синовіальній рідині значно відрізняється у здоровому суглобі та суглобі, ураженому остеоартрозом. У здорових суглобах вона є низькою, та, відповідно, підвищеною у суглобі, що уражений остеоартрозом. Це призводить до активації різних сигнальних шляхів у клітинах [312]. Найбільш вражаючим спостереженням, за проаналізованими нами даними літератури, є дослідження, яке демонструє, що інгібування активності сигналу TGF-β у нормальному суглобі призводить до його пошкодження, тоді як у більшості досліджень продемонстровано, що інгібування TGF-β на експериментальних моделях навпаки зменшує тяжкість перебігу остеоартрозу [313]. Тобто, як і у багатьох інших випадках, продемонстровано відсутність екстраполяції *in vivo* досліджень на людську модель. Тому, ймовірно, застосування біотехнологічних продуктів, у тому числі, оптимізує сигнальні шляхи TGF-β, блокуючи шкідливі та одночасно зберігаючи або стимулюючи захисні шляхи. Проведене нами експериментальне

in vitro дослідження, зокрема вказує на важливість високого вмісту TGF-β у біотехнологічному продукті [190].

І, зрештою, третій експериментальний напрямок, що був обраний у нашій роботі - це дослідження клітинного складу біотехнологічних продуктів на прикладі концентратів периферичної крові. Слід зазначити, що регенерація – це здатність організму відновлювати пошкодження, які спричинені такими факторами, як травма, інфекція або дія токсичних речовин. Цей процес включає проліферацію та диференціацію клітин та керується різними цитокінами, зокрема факторами росту. Фактично, аутологічні концентрати периферичної крові є поєднанням фібринового скаффолда з клітинами, факторами росту та цитокінами та мають здатність впливати на процес регенерації з залученням різних сигнальних механізмів [314].

Відомо, що після пошкодження цілісності судин або тканин тромбоцити є першою ланкою, яка відіграє вирішальну роль у гемостазі, локальній імунній відповіді, стимуляції ангіогенезу та загоєнні рани. Останній аспект є особливо важливим, оскільки ефекти загоєння рани вказують на регенеративну здатність щодо підтримки цілісності та гомеостазу усього тіла [315]. Активація тромбоцитів відбувається за рахунок різноманітних чинників –- фізичних або хімічних. Окрім мінімізації крововтрати після активації, тромбоцити сприяють загоєнню пошкодженої тканини. Це досягається за рахунок вивільнення цитокінів, хемокінів і факторів росту з пластинчастих гранул. Відомо, що фактори росту, виявлені в тромбоцитах, беруть участь у покращенні регенерації тканин, але з огляду на клінічні аспекти, важливим моментом є стандартизація активації тромбоцитів [316-317].

У свою чергу ще одним з клітинних компонентів аутологічних концентратів периферичної крові є лейкоцити. Їх основна роль в організмі полягає у продукціїі запальних цитокінів та ряду факторів росту. Так, у першу добу після пошкодження тканини майже 50% усіх клітин у місці рани – це нейтрофіли [318-320]. Одночасно в ділянці рани з'являються моноцити (макрофаги), які також відіграють одну з провідних ролей у загоєнні ран [321-

322] Вони також мають імуномодулюючіі функції та є важливим джерелом факторів росту [323]. Крім того, макрофаги секретують колагеназу, яка стимулює процес очищення рани від некротичних тканин, і виділяють трансформуючий фактор росту (TGF), про роль якого в процесі регенерації тканин ми згадували вище. Лімфоцити також виробляють фактори росту, які можуть сприяти ремоделяції тканин під час пізньої фази загоєння ран [324-325]. Таким чином, джерела основних загоювальних молекул походять не лише з тромбоцитів, але й із лейкоцитів.

В Розділі 1 ми згадували про суперечки щодо ролі, яку відіграють лейкоцити в аутологічних концентратах периферичної крові. Проте в останніх клінічних дослідженнях і систематичних оглядах щодо ефективності різних типів збагаченої тромбоцитами плазми (збідненої та збагаченої лейкоцитами) результати показали відсутність різниці між двома групами при їх клінічному застосуванні [326-328], зокрема з точки зору зменшення больового синдрому та функціональних балів за різними ортопедичними шкалами [329-331].

Вищезазначені дані в тому числі корелюють і з результатами нашого аналізу клінічного застосування лейкоцитарної та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з остеоартрозом [283]. Зокрема нами запропоновано диференційоване застосування цих біотехнологічних продуктів [234, 332].

Отже, за результатами аналізу експериментального *in vitro* дослідження регенеративних технологій у пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату, зокрема при остеоартрозі, нами встановлено протизапальний, метаболічний, прорегенеративний, антидеструктивний ефект біотехнологічних продуктів на прикладі аутологічних концентратів периферичної крові.

Крім того, отримані нами дані експериментів *in vitro* корелюють з результатами одного з останніх *in vivo* досліджень, яке полягало у вивченні впливу біотехнологічних продуктів периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини на тканини суглоба шляхом моделювання третьої

стадії остеоартрозу колінного суглоба у кролів [333]. Ця дисертаційна робота також 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).

У цій роботі автором, зокрема, встановлено паракринний ефект біотехнологічних продуктів на процеси ремоделяції та регенерації пошкоджених тканин суглоба у кролів. Також встановлено, що їх дія полягала у пригніченні пошкодження субепіфізарної кісткової тканини та пригнічувала деструктивні процеси у тканинах суглоба, шляхом оптимізації метаболічних процесів [333].

Отримані результати експериментального напрямку нашого дослідження стали основою для подальшої розробки протоколів виготовлення біотехнологічних продуктів та критеріїв їх якості і безпеки. Результати цих досліджень викладені нами у розділах 4 та 5.

Ми вже зазначали про важливість терапевтичного впливу на ураження не лише суглобового хряща, але й субхондральної кістки у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів [44, 307, 333]. Саме з метою створення біотехнологічного продукту для субхондрального застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом, нами була розроблена методологія виготовлення кісткових скаффолдів [111], яка представлена у розділі 4. Ця технологія є валідованою, крім того нами було проведене експериментальне дослідження *in vitro* та доведена висока біосумісність скаффолдів з клітинним матеріалом [222].

Відомою є методика лікування асептичного некрозу головки стегнової кістки із застосуванням кісткових трансплантатів аутологічного походження [169]. Нами розроблено ряд способів застосування алогених кісткових скаффолдів з аутологічними біотехнологічними продуктами периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини [246-250], що дозволяє уникнути додаткового оперативного втручання із забору аутологічної кістки.

Також розроблено новий ін'єкційний біотехнологічний продукт на основі алогенного кісткового скаффолда та висококонцентрованої збагаченої тромбоцитами плазми (реєстраційна картка технології: Державний реєстраційний номер 0624U000101, № Держреєстрації НДДКР 0122U000200) для інтервенційного внутрішньокісткового введення. Ці продукти і способи представлено у розділі 5, що присвячений розробці технологій та методик забору та обробки біологічного матеріалу для виготовлення біотехнологічних продуктів, їх класифікації та способам застосування.

Варто зазначити, що незважаючи на значне поширення та певну рутинність щодо застосування біотехнологічних продуктів у клінічній практиці ортопедії та травматології протягом останнього десятиліття, у літературі не описано їх комплексної класифікації [334]. Станом на сьогодні відомим є широкий асортимент ін'єкційних біотехнологічних продуктів [335-337]. Їх зачасту класифікують на клітинні, безклітинні та генноінженерні [334]. Нами, окрім згаданої вже класифікації біотехнологічних продуктів [242], розроблено класифікацію аутологічних концентратів периферичної крові [234], яка дозволяє більш точно охарактеризувати клітинний склад зазначених біотехнологічних продуктів та співвідношення клітин у ньому або у субпродукті в разі подальшого виготовлення безклітинного варіанту.

Щодо протоколів виготовлення біотехнологічних продуктів, навіть у літературі останніх років [334] обговорюється доцільність двохетапного центрифугування при виготовленні збагаченої тромбоцитами плазми, хоча здавалось би таке обговорення вже давно мало б відійти у минуле. У зв'язку з цим частина розділу 5 була присвячена представленню протоколів виготовлення різних варіантів біотехнологічних продуктів з периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини, а також у цьому розділі чітко продемонстровано клітинні характеристики біотехнологічних продуктів залежно від варіанту виготовлення. Також представлено візуалізаційні критерії якості і безпеки концентратів периферичної крові та доведено актуальність

дотримання протоколу не лише виготовлення біотехнологічних продуктів, але і підготовки пацієнта до забору біологічного матеріалу [234].

Щодо розробки протоколів виготовлення та критеріїв якості і безпеки біотехнологічних продуктів з аспірату кісткового мозку, варто зазначити, що за даними літератури клітини, які містяться в кістковому мозку, можна класифікувати на дві групи: негемопоетичні клітини (перицити, ендотеліальні клітини, остеобласти, адипоцити та клітини Шванна) та гемопоетичні клітини (нейтрофіли, лімфоцити, мегакаріоцити, моноцити і остеокласти) [338]. Стимулюючі ефекти аспірату кісткового мозку є відомими [339], у той же час дискутабельним залишається питання, за рахунок яких клітини аспірат кісткового мозку реалізує свій регенеративний потенціал. Зокрема в сучасній літературі є твердження, що основною популяцією дорослих стовбурових клітин, присутніх у аспіраті кісткового мозку, які справляють помітні фізіологічні ефекти є ММСК [340]. Ці клітини мають потенціал до диференціювання у різні тканини мезенхімального походження та різні мезодермальні лінії, такі як остеобласти, хондроцити та адипоцити [341-342]. Їх також називають «лікарськими сигнальними клітинами» [343-344] через їх терапевтичні, імуномодулюючі та трофічні функції, які відіграють вирішальну роль у місцях запалення та пошкодження тканин, включно з сигналізацією та координацією сусідніх клітин [345]. Завдяки своїм паракринним і аутокринним ефектам ММСК також здатні модифікувати запалення шляхом посилення відповідей Treg і Th2 через продукцію IL-10, IL-4 і IL-5 та протизапальних цитокінів, а також шляхом зниження активації прозапального M1 фенотипу макрофагів, одночасно підвищуючи активність фенотипу M2 - протизапального [346-347]. Дослідження продемонструвало, що гіпоксичне прекондиціонування ММСК, виділених з КМ гребеня клубової кістки та хребця, може збільшувати проліферацію, морфологію, остеогенез і хондрогенез, пригнічувати адипогенез та регулювати рівні молекулярних сигнатур генів HOX, які відповідають за регуляцію розвитку сегментів і структур тіла [348-349]. Ще одним компонентом регенеративного потенціалу аспірату кісткового мозку є

гемопоетичні стовбурові клітини (ГСК). У згаданій вище публікації [340] вказано, що вони присутні в аспіраті КМ у менших концентраціях, ніж ММСК і є дорослими попередниками, які відповідають за гемопоез та з яких походять усі клітини крові [350]. ГСК є мультипотентними клітинами, які можуть проліферувати шляхом самовідновлення та диференціації, мають здатність диференціюватися у великих масштабах, диференціюватись у клітини різних ліній і прямо чи опосередковано сприяти лікуванню захворювань крові та стимулювати регенерацію тканин [350-351].

У нашій роботі ми отримали інші результати. Було встановлено, що ГСК є основними клітинами аспірату кісткового мозку і саме їх співвідношення та концентрації є визначальними у потенційному регенеративному ефекті біотехнологічних продуктів з аспірату кісткового мозку. ММСК також присутні у зазначених продуктах, але їх концентрація складає 0,001–0,003% від загальної концентрації ядровмісних клітин (розділ 5, підрозділ 5.3.2). Наше дослідження також корелює з даними іншого дослідження, яке підтверджує більш вагому роль саме ГСК, як регенеративного чинника мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на основі аспірату кісткового мозку [239-240].

Розділ 6 присвячений розробці методології обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних технологій та методик їх застосування.

Діагностика остеоартрозу кульшового та колінного суглобів станом на сьогодні, здавалось би, є досить вивченим питанням. Рентгенографія, магнітно-резонансна томографія, ультрасонографія - кожен з цих методів дозволяє поставити діагноз [352]. У той же час, застосування нових методів лікування остеоартрозу потребує нових підходів до його діагностики [353]. Основною проблемою при остеоартрозі є суттєве погіршення якості життя пацієнта. Слід зазначити, що погіршення якості життя не завжди корелює з результатами об’єктивних методів дослідження. Симптоми остеоартрозу є досить індивідуальними та варіюють не лише залежно від стадії, але й від віку, статі,

способу життя [354]. Отже, незважаючи на значні досягнення в діагностиці остеоартрозу, її особливості при застосуванні регенеративних технологій мають багато невирішених питань.

Наприклад, однією з актуальних проблем при використанні регенеративних технологій є питання онкогенності, особливо при застосуванні біотехнологічних продуктів, що містять стовбурові клітин. Сучасні дослідження дедалі частіше вказують на провідну роль епігенетичних структур у питанні онкогенезу [143-145]. Останніми роками найбільш перспективним напрямком вважається вивчення ролі мікроРНК, як епігенетичного чинника, що відіграє одну з провідних ролей у розвитку онкологічних захворювань [355].

Щодо діагностики асептичного некрозу – МРТ справедливо вважається основним обстеженням для раннього виявлення захворювання та визначення тактики лікування. Рентгенографія, ультразвукове дослідження, комп'ютерна томографія та сцинтіграфія описуються у переважній більшості літературних джерел, як допоміжні методи обстеження [356]. Дане твердження є актуальним і при застосуванні регенеративних технологій.

За отриманими нами результатами [251], особливістю клінічного обстеження є застосування опитувальників якості життя, як ключового діагностичного прийому для оцінки стану пацієнта, якості його життя та ефективності застосування регенеративних технологій. Особливістю лабораторного обстеження є дослідження ризику онкогенезу у пацієнтів при застосуванні регенеративних технологій. Особливістю інструментального обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів є наступна послідовність дій: ключовим для інструментального обстеження пацієнтів з остеоартрозом при застосуванні регенеративних технологій є рентгенологічне обстеження з встановленням стадії остеоартрозу. УЗД та МРТ є допоміжними методами та застосовуються з метою виявлення і оцінки обсягу ураження м'яких тканин кульшового та колінного суглобів для визначення тактики застосування регенеративних технологій. Ключовим для інструментального обстеження пацієнтів з

асептичним некрозом при застосуванні регенеративних технологій є МРТ, оскільки воно дозволяє окрім діагностичних параметрів визначити тактику та прогностичні критерії ефективності застосування регенративних технологій. Рентгенологічне дослідження та УЗД у пацієнтів з асептичним некрозом є допоміжними.

Також у розділі 6 нами було представлено удосконалену методику введення біотехнологічних продуктів щляхом розробки ультразвукових навігаційних доступів до структур колінного та кульшового суглобів, що найчастіше пошкоджуються як при травматичних ураженнях, так і внаслідок таких розповсюджених захворювань як остеоартроз, асептичний некроз тощо [267]. Звісно, відомі роботи, що присвячені ультразвуковому контролю під час проведення ін'єкцій та інших маніпуляцій в ділянці кульшового та колінного суглобів [357-358], але вони переважно зосереджені на традиційних маніпуляціях, таких як параартикулярне введення медикаментозних препаратів (гормональних, місцевих анестетиків) або ж проведенні пункцій та медикаментозних блокад. Застосування засобів регенеративної медицини потребує більш точного їх введення у внутрішньосуглобові структури з метою терапевтичного впливу при їх пошкодженнях та покращення ефективності застосування регенеративних технологій.

Окрім того нами була вдосконалена методика внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів шляхом розробки навігатора [268].

Ще одним напрямком дослідження, результати якого представлено у розділі 6, стала розробка методологічних засад застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів. Зокрема, нами вивчалася скелетна зрілість, як біомаркер регенеративного потенціалу пацієнтів дитячого та підліткового віку, на моделях юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки [271, 274], синдрому фемороацетабулярного конфлікту [275-276], хвороби Ерлахера-Блаунта [272-273] та спастичного звиху стегна у пацієнтів з дитячим

церебральним паралічем [277]. Також вивчали епігенетичні та клініко-генеалогічні біомаркери ризику виникнення та прогресування остеоартрозу у дітей та підлітків на моделі юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки (ЮЕГСК) [270]. Ми обрали для цієї мети саме модель юнацького епіфізеолізу, оскільки це мультифакторне захворювання, обумовлене низкою чинників, кожен з яких може стати ключовим у його виникненні. Пацієнти з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки, можливо, як ніхто інший з пацієнтів підліткового віку з патологією опорно-рухового апарату мають свій власний фенотип та особливості морфотипу кульшового суглоба згідно аналізу їх клінічних даних та даних рентгенморфометричного дослідження.

Фенотип часто пов'язаний з ожирінням або, рідше, ознаками дисплазії сполучної тканини [359]. Морфотип кульшового суглоба пов'язаний з так званою деформацією по типу “ручки пістолета”. Відомо, що будь-який фенотип обумовлюється тим чи іншим генотипом. Так, за даними Goodman D.A. та ін. [360] артрозні зміни були знайдені у 38% пацієнтів з наслідками юнацького епіфізеолізу. Але у той же час 62% пацієнтів таких змін не мали. Тому перенесений ЮЕГСК є лише фактором ризику розвитку остеоартрозу. Стосовно залежності розвитку остеоартрозу від форми кульшового суглоба, остання також є фактором ризику розвитку остеоартрозу. Так, при спостереженні за пацієнтами з ЮЕГСК, які мали «natural history» спостерігали у подальшому виникнення деформації по типу «ручки пістолета». Ця деформація обумовлена заднім зміщенням та варусною деформацією головки стегнової кістки. Отже, морфологія зміщення при ЮЕГСК включає медіальне та (або) заднє зміщення головки, вкорочення шийки, варусну деформацію проксимального відділу стегна, збільшення обрисів головки (coxa magna) та високе стояння великого вертлюга [361-363]. Таким чином, збільшене навантаження на передню метафізарну частину проксимального відділу стегна та передню частину вертлюга під час згинання та внутрішньої ротації призводить до розвитку остеоартозу [360]. В середньому у пацієнтів з ЮЕГСК

остеоартроз виникає на 11 років раніше, ніж у пацієнтів без ознак ЮЕГСК [361].

Генетичні чинники хоч і виявляються у пацієнтів з ЮЕГСК, швидше за все діють через декілька або через численні гени, кожен з яких має незначний вплив на розвиток захворювання. Тобто не було та, швидше за все, і не буде встановлено окремих генів, які відповідають за виникнення ЮЕГСК [364]. Тому генетичне дослідження має бути спрямоване лише на допомогу у прогнозуванні перебігу захворювання та розвитку остеоартрозу в подальшому. Механічні чинники можуть бути зрозумілими з урахуванням еволюційних особливостей людини. Починаючи свій вплив у період внутрішньоутробного розвитку і продовжуючи при початку ходи та в процесі скелетного дозрівання, вони можуть приховати особливості історії хвороби, що сприяють виникненню ЮЕГСК. І навпаки, якщо виникає сукупність доказів, це документує взаємозв'язок між генетичними та механічними факторами у розвитку морфотипу кульшового суглоба. Чи буде його певний морфотип призводити до прогресування остеоартрозу, знову ж таки залежить від механічних факторів, тобто історії навантаження, але це залежить також і від здатності хряща протистояти механічним навантаженням, тобто "картилотипу" [365].

Як відомо, процеси росту (соматотропний гормон), обміну речовин скелета (паратгормон, тироксин) та його зрілості регулюються гормонами. Гормонами, які впливають на структуру кісткової тканини та обумовлюють статеве диференціювання скелета, є андрогени [366]. В період статевого дозрівання завершується процес окостеніння зон росту. Внаслідок дефіциту андрогенів гальмуються процеси окостеніння хряща, що призводить до розвитку остеопорозу. Оскільки дозрівання скелета залежить від насиченості організму статевими гормонами, кістковий вік та скелетна зрілість безпосередньо відображають ступінь статевої зрілості організму. Тобто, за рівнем статевих гормонів в організмі у препубертатний та пубертатний періоди

статевого розвитку можна проводити паралелі стосовно процесів окостеніння, розвитку ортопедичної патології у цьому віці та прогнозувати її перебіг.

Сучасні дослідження дедалі частіше вказують на провідну роль епігенетичних структур у виникненні та перебігу остеоартрозу [143-145]. Нами було досліджено мікроРНК-21 у пацієнтів з ЮЕГСК, як епігенетичний біомаркер розвитку остеоартрозу. Раніше мікроРНК-21 було виділено через його важливість у прогресуванні пухлин та метастазуванні, зокрема в процесі клітинної проліферації та диференціювання, що є життєво важливим для хондрогенезу та ремоделяції хряща [367-369]. Однак роль мікроРНК-21 у прогресуванні остеоартрозу та його основний механізм впливу тривалий час залишалися невизначеними. Згодом з'явилися публікації щодо впливу мікроРНК-21 на ген GDF-5, який є сигнальним для хондрогенезу та сприяє диференціації хондроцитів [157]. Було встановлено, що мутації в GDF-5 викликають епіфізарну дисплазію, що характеризується раннім початком остеоартрозу, зокрема кульшових суглобів та суглобів кисті [158, 370]. Крім того, функціональний поліморфізм GDF-5 безпосередньо пов’язаний зі схильністю до остеоартрозу [161, 371]. Враховуючи важливу роль мікроРНК і GDF-5 у розвитку остеоартрозу, [162, 370] важливо було встановити потенційні ефекти шляху miR-21-GDF-5, пов’язаного з порушенням хондрогенезу, щоб можна було надалі розробляти терапевтичні підходи.

У роботі Yukun Zhang зі співавторами [155] вперше підтвердили роль мікроРНК-21 у патогенезі остеоартрозу. У цій роботі було продемонстровано, що примусова надекспресія мікроРНК-21 пригнічує маркери хондрогенезу, включаючи колаген типу II, колаген типу X, глікозаміноглікан і аггрекан. Оскільки ферменти, що руйнують матрицю, і прозапальні цитокіни відіграють ключову роль у патогенезі остеоартрозу [372-373], вони додатково оцінили рівні експресії генів, які кодують катаболічні фактори, включно з металопротеїназами (ММП) і прозапальними цитокінами. Авторами було встановлено, що рівні MMP1, MMP2, MMP3 і MMP9 значно підвищувалися, у випадку, якщо на клітини впливали синтетичним попередником мікроРНК-21.

Деякі дослідження також показали, що мікроРНК-21 може впливати на рівень ММП в інших тканинах [374-375].

Вищезазначене свідчить про вірно обрану нами методологію епігенетичного дослідження ризиків розвитку остеоартрозу. За результатами нашого дослідження встановлено, що показники експресії мікроРНК-21 у цільній крові пацієнтів з юнацьким епіфізіолізом головки стегнової кістки достовірно перевищували такі у здорових осіб аналогічного вікового діапазону ($p<0,05$) [270], що свідчить про роль епігенетичних факторів у виникненні та прогресуванні остеоартрозу у досліджуваної групи пацієнтів.

За результатами вивчення біомаркерів, нами розроблено показання та диференційований підхід до застосування регенеративних технологій у пацієнтів дитячого та підліткового віку з захворюваннями кульшового та колінного суглобів, згідно якого ми рекомендуємо застосовувати їх вже починаючи з періоду індукції пубертату [269].

У розділі 7 представлено результати аналізу застосування регенеративних технологій та персоналізований підхід до їх застосування у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

Порівнюючи отримані результати лікування пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів на різних стадіях [282-283, 285-286], слід виділити декілька важливих моментів.

Основною скаргою пацієнтів, незалежно від стадії захворювання був біль (85% пацієнтів). Обмеження рухів, як ізольований симптом, непокоїло лише у 12,5% випадків. Біль під час ходи, фізичних навантажень спостерігався у 44% пацієнтів, постійний біль був характерний для 35% пацієнтів при 3 стадії захворювання. У решті випадків больовий синдром мав непостійний характер.

Посилення больових відчуттів протягом перших діб при застосуванні концентратів периферичної крові, на нашу думку, безпосередньо було пов’язане з наявністю у продукті лейкоцитів та прозапальних інтерлейкінів, які посилюють процеси запалення. Ці цитокіни також підвищують експресію генів,

які сприяють катаболічним змінам у хрящовій тканині та посилюють процеси запалення, зокрема прозапальні інтерлейкіни (IL1β, IL6 та IL8), індуцибельна NO-синтаза (iNOS), циклооксигеназа 2 (COX2) та металопротеїнази 1 та 13 (MMP1 та MMP13) [74, 216, 376-377]. Зокрема, iNOS відповідає за синтез NO – одного з основних прозапальних медіаторів при остеоартрозі [378]. Підвищення концентрації металопротеїназ MMP1 та MMP13 (відносяться до колагеназ) може викликати руйнування позаклітинного колагену II типу (підвищені рівні характерні для остеоартрозу та ревматоїдного артриту) [379].

Крім того, під дією прозапальних цитокінів IL1β та TNF-α знижується синтез основних компонентів позаклітинного матриксу в хрящовій тканині агреканів та колагену II типу, посилюється загибель хондроцитів шляхом апоптозу та підвищується утворення активних форм кисню, які сприяють оксидативному пошкодженню хряща [380]. Однак, плазма містить значну кількість протизапальних факторів, зокрема таких, як агоніст рецептора IL-1 (IL-1ra). Він інгібує активацію IL-1 через блокування його взаємодії з власним рецептором. Крім того, у плазмі знаходиться значна кількість протизапальних інтерлейкінів:IL-4, IL-10 та IL-13. Вони гальмують синтез простагландину E2 (PGE2) під впливом TNF-α. Цим може поснюватись поступове та відчутне зниження больових відчуттів у пацієнтів на різних стадіях гонартрозу [381-382].

Нейтрофіли – одні з перших клітин, які з’являються у зоні гострого запалення. Це реакція на вплив цитокінів, таких як інтерлейкіни (IL-1, IL-8) та TNF-α разом з багатьма іншими. За фізіологічних обставин нейтрофіли зазнають апоптозу та повністю знищуються тканинними макрофагами [383-384]. За певних умов, наприклад, через брак макрофагів, нейтрофіли зазнають некрозу, в результаті якого вивільняється увесь їх внутрішньоклітинний вміст, що прриизводить до посилення та подовження запальної реакції.

Моноцити здатні гальмувати презентацію антигенів та вироблення цитокінів. Як правило, лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма містить значно підвищену (до 3–6 разів від вихідної) концентрацію моноцитів, а

підвищена концентрація тромбоцитів здатна стимулювати міграцію мононуклеарних клітин [385-386]. Це мало б нейтралізувати вплив значних концентрацій нейтрофілів, проте деякі дослідження свідчать, що це також призводить до збільшення концентрації прозапальних інтерлейкінів, які посилюють запальну реакцію в ранньому періоді. Крім того, моноцити мігрують до місця ураження та диференціюються у макрофаги та дендритні клітини, що ініціює, на відміну від нейтрофілів, імунну відповідь тривалого характеру (місяці, а не дні порівняно з нейтрофілами) [377, 387]. При цьому, у групі пацієнтів, яким була застосована лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма, частота та вираженість больового ефекту у перші кілька діб після застосування препарату були достовірно вищими, ніж у пацієнтів після застосування малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми, незалежно від стадії захворювання ($p \leq 0,05$). У цій же групі пацієнтів клінічний ефект проявлявся у більш ранньому періоді ніж після застосування малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми (після 1–2 ін'єкцій порівняно з 4–5 ін'єкціями) ($p \leq 0,05$).

При застосуванні лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з 1-ю та 2-ю стадією гонартрозу відмічали характерне зменшення досягнутого клінічного ефекту протягом 1–3 місяців – досягнення «плато». Пацієнти відмічали уповільнення зменшення клінічних проявів – болю, скутості, набряків, синовіїту тощо.

Саме зменшення больових відчуттів, на нашу думку, призводило до покращення функціональної здатності колінного суглоба у пацієнтів з гонартрозом 3 стадії.

Уповільнення динаміки протягом 1–3 місяців характерне для пацієнтів, які отримували малолейкоцитарну збагачену тромбоцитами плазму та кріолізат тромбоцитів, на нашу думку пов'язане з активацією іншого шляху реалізації протизапального ефекту, а саме – активації ендогенних мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин (ММСК). У той самий час, порівняно з

лейкоцитарною ЗТП, позитивний терапевтичниий ефект пацієнти відмічали дещо пізніше (від 3-4 тижнів) після початку лікування. Активація ММСК частково відбувається за посередництва хемокіну SDF-1a (CXCL12), що міститься в альфа-гранулах тромбоцитів. Цей ефект посилення міграції клітин-попередників використовується у лікуванні остеоартрозу та дефектів хряща – мікрофрактурування, тунелізація під час оперативних втручань. Разом з тим, відсутність тривалого клінічного ефекту з залученням ММСК у пацієнтів з гонартрозом 3-ї стадії пов'язане, на нашу думку, з вираженими дистрофічними змінами у хрящовій тканині, субхондральних та параартикулярних тканинах. Крім того судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF) та фактор росту тромбоцитів (PDGF), які в значній кількості містяться у тромбоцитах, сприяють міграції мезенхімальних стовбурових клітин, а також макрофагів та фібробластів [388-390]. Тому пацієнтам з 3-ю стадією остеоартрозу другим етапом показане введення концентратів аспірату кісткового мозку або жирової тканини для отримання більш тривалого ефекту.

У одному з досліджень [216] автори дійшли висновку, що за однакової концентрації тромбоцитів у малолейкоцитарній та лейкоцитарній ЗТП, вища концентрація лейкоцитів викликає активацію різних сигнальних шляхів регенерації. На моделі остеоартрозу *in vivo* лейкоцитарна ЗТП спричиняла значне підвищення рівня прозапальних цитокінів, що негативно впливало на процеси регенерації, метаболізм хрящової тканини та нівелювало позитивний вплив факторів росту [216].

В інших дослідженнях також було продемонстровано переваги використання малолейкоцитарної ЗТП у лікуванні остеоартрозу колінного суглоба на різних стадіях та її здатність рекрутувати ММСК в процеси регенерації [391-394]**.** Протилежні дані продемонстровано у дослідженні інших авторів [395]. У цій роботі кращі результати було отримано у групі пацієнтів після застосування лейкоцитарної ЗТП.

Враховуючи вищезазначене, нами був запропонований диференційований підхід до застосування лейоцитарних та малолейкоцитарний варіантів ЗТП у

пацієнтів з остеоартрозом [234, 396]. Згідно цього підходу рекомендуємо застосування малолейкоцитарних варіантів концентратів периферичної крові у пацієнтів з 1-ю та 2-ю стадією остеоартрозу, задля мінімізації можливої хондротоксичної дії лейкоцитів та лейкоцитарних варіантів – у пацієнтів з 3-ю стадією остеоартрозу, з метою терапевтичного впливу макрофагів на пошкоджені тканини.

Щодо результатів лікування, які ми отримали у групі пацієнтів при порівняльному аналізі застосування регенеративних інтервенційних технологій з іншими методами лікування [287], аналіз зарубіжних джерел дозволив встановити, що стратегії лікування пошкоджень менісків спрямовані на покращення функції, зниження рівня інвалідності, полегшення болю та покращення якості життя пацієнтів.

Так, Sochacki K.R. зі співавторами [397] провели систематичний огляд досліджень, в яких порівнювалися результати ізольованої артроскопічної реконструкції меніска, доповненої ЗТП та без ЗТП (загальна група дослідження склала 274 пацієнти, 110 з яких проводилося введення ЗТП, а 164 проводилося лікування без застосування ЗТП, період спостереження склав 29,2 ± 22,1 міс.). Відновлення меніска, доповнене ЗТП, мало значно нижчу частоту незадовільних результатів, ніж відновлення без застосування ЗТП (відношення шансів склало 0,32; 95% ДІ 0,12-0,90; p = 0,03).

Belk J.W. зі співавторами [398] було проведено систематичний огляд 6 досліджень (2 дослідження з рівнем доказовості 1; 4 дослідження з рівнем доказовості 3), загалом було обстежено 309 пацієнтів, яким проводилося відновлення меніска із застосуванням ЗТП (середній вік склав 31,9 років) та 445 пацієнтів – без застосування ЗТП (середній вік склав 29,6 років). Середня тривалість спостереження становила 32,8 місяці (діапазон від 12 до 72 місяців). Загалом, 17,0% пацієнтів, у яких застосовувалася ЗТП, відчували незадовільні результати від відновного лікування. У групі, де не застосовувалася ЗТП такі пацієнти становили 22,1%. Між групами не було встановлено відмінностей у

балах ВАШ, Lysholm або суб’єктивних IKDC, за винятком 1 дослідження, в якому післяопераційні суб’єктивні показники IKDC були значно кращими у групі ЗТП ($p<0,01$). Інше дослідження встановило значно кращі післяопераційні показники WOMAC серед пацієнтів, яким застосовувалася ЗТП, а 2 останні дослідження встановили значно кращі результати опитування за шкалами KOOS серед пацієнтів, яким застосовувалася ЗТП.

Систематичний огляд Giuffrida A. зі співавторами [399] охопив 10 досліджень (1525 пацієнтів), які були присвячені консервативному лікуванню і його порівнянню з артроскопічним відновленням. У 8 дослідженнях ефективність фізичної терапії порівнювали з хірургічними втручаннями, ще у 1 дослідженні порівнювалася ефективність внутрішньосуглобових ін'єкцій стероїдів та хірургічних втручань, ще у одному дослідженні ефективність плацебохірургії порівнювали з частковою меніскектомією. В усіх дослідженнях не спостерігалося істотних міжгрупових відмінностей щодо болю в коліні та функції коліна за жодної оцінки. За результатами досліджень дегенеративні розриви менісків без симптомів блокування та защемлення можна успішно лікувати за допомогою належного режиму та фізичної терапії. Хірургічний підхід можна розглядати у разі поганої відповіді на консервативне лікування.

Таким чином, результати наших досліджень доповнюють результати метааналізу Belk J. та співавторів [398] щодо ефективного застосування лікування ЗТП, а також відновлення функціональних можливостей пацієнтів з травматичними пошкодженнями менісків колінних суглобів при наявності остеоартрозу колінного суглоба 1-ї та 2-ї стадії та отриманням позитивних результатів застосування регенеративних технологій щонайменше на 3 роки.

Проведений нами аналіз результатів застосування PIT у пацієнтів з асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів (розділ 7, підрозділ 7.2) продемонстрував ефективність цих методик у зазначених пацієнтів, зокрема в преколаптоїдній стадії, що корелює з літературними даними [400-401].

За результатами проведеного аналізу лікування пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів за допомогою РІТ нами був розроблений персоналізований підхід до їх застосування, який включає 2 напрямки: відбір пацієнтів для лікування регенеративними технологіями та складання плану лікування.

Відбір пацієнтів з остеоартрозом складається з 5 етапів:

1. Визначення рентгенологічної стадії ОА;

2. Встановлення переважання фенотипу остеоартрозу;

3. Визначення очікувань пацієнта від лікування;

4.Аналіз результатів лабораторного обстеження для встановлення протипоказань до застосування регенеративних технологій;

5. Аналіз даних анамнезу життя.

Складання плану лікування включає вибір варіанту біотехнологічного продукту або їх комбінації, аналіз результатів опитування щодо якості життя з використанням різних шкал та аналіз результатів додаткових методів дослідження (МРТ та УЗД) для визначення внутрішньосуглобових та парасуглобових ушкоджень.

У обговоренні отриманих результатів та запропонованого персоналізованого підходу слід зазначити, що наразі існує консенсус щодо застосування регенеративних технологій у тому числі при остеоартрозі та асептичному некрозі суглобів, розроблений мультидисциплінарною робочою групою [402]. Цей багатопрофільний документ підсумовує наявні докази використання ін’єкційних біопрепаратів для лікування різних хронічних захворювань, включаючи механізми їх дії, рекомендації щодо найкращих варіантів підготовки до застосування біотехнологічних продуктів, результати лікування, етичні аспекти їх застосування, побічну дію та ускладнення. Консенсусні точки досягли >80% серед членів експертної групи.

Важливою темою цієї настанови є механізм дії біотехнологічних продуктів та розуміння того, який їх ефект вважати позитивним. Щодо

терапевтичних ефектів регенеративних технологій при ОА або асептичному некрозі, не завжди вдається досягти повної регенерації тканини або ж відновлення дефекту. Найчастіше спостерігаються такі ефекти, як зменшення інтенсивності больового синдрому та покращення функціональних можливостей ураженого суглоба, а отже, покращення якості життя пацієнта. Лікування регенеративними технологіями є багатофакторним та пов'язане з комплексним впливом білків (цитокінів, факторів росту) та клітин на запальне середовище в ураженій тканині.

Тобто не завжди слід розраховувати на те, що ефектом застосування біотехнологічних продуктів буде повернення ураженої тканини до свого додегенеративного стану. Біотехнологічні продукти переважно функціонують, як імуномодулятори, можуть послабити катаболічні шляхи, покращити трофіку тканин і стабілізувати механічний компонент.

Іншою темою цього консенсусу є відсутність стандартизації технік приготування та введення біотехнологічних продуктів.

Тому запропонований нами персоналізований підхід наразі містить основні принципи, що стосуються відбору пацієнтів для лікування регенеративними технологіями, вибору біотехнологічного продукту, режимів та технік їх введення в ушкоджену тканину.

ВИСНОВКИ

Регенеративні інтервенційні технології є новим напрямком ортопедичної науки, який поєднує сучасні досягнення регенеративної медицини та високотехнологічних можливостей навігації. В роботі представлено розробку нових біотехнологічних продуктів та способів їх отримання, методологію застосування, а також продемонстровано ефективність результатів у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

1. За результатами експериментального дослідження аутологічних маломаніпульованих концентратів периферичної крові людини *in vitro* встановлено їх протизапальну прорегенеративну дію на метаболічну поляризацію моноцитів периферичної крові людини ($p<0,05$) незалежно від віку, статі пацієнта та клітинних показників у нативному біоматеріалі.

2. Розроблено методологію обстеження донорів кісткової тканини для виготовлення скаффолдів та встановлено, що придатними для донорства є близько 30% усіх обстежуваних потенційних донорів.

3. Розроблено методологію виготовлення кісткових скаффолдів з головок стегнових кісток, отриманих від живих донорів під час ендопротезування кульшового суглоба, яка є валідованою та дозволяє отримати якісний та безпечний алогенний біотехнологічний продукт в умовах окремого госпіталя.

4. За результатами експериментального *in vitro* дослідження встановлено, що скаффолди, отримані за технологією госпітального кісткового банку, мають найменш виражену антипроліферативну дію порівняно з іншими, а їх комбінація зі збагаченою тромбоцитами плазмою покращує виживаність фібробластів, підвищує їх проліферативну активність та забезпечує підвищення остеоіндуктивних властивостей самого скаффолда.

5. На прикладі клітинних варіантів аутологічних концентратів периферичної крові розроблено критерії їх якості: тромбоцитарний індекс, лейкоцитарний індекс, індекс лейкоцитарно-тромбоцитарного співвідношення

та візуалізаційні критерії якості. На прикладі кріолізату тромбоцитів встановлено, що зазначені біотехнологічні продукти є безпечними для клінічного застосування.

6. Розроблено класифікацію аутологічних тромбоконцентратів, згідно з якою виділено такі типи продуктів: за вмістом клітин – малолейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма, лейкоцитарна збагачена лейкоцитами плазма, та кріолізат тромбоцитів на основі малолейкоцитарної або лейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми; за концентрацією тромбоцитів – збіднена на тромбоцити плазма, збагачена тромбоцитами плазма плазмового типу, класична збагачена тромбоцитами плазма, концентрована збагачена тромбоцитами плазма та гіперконцентрована збагачена тромбоцитами плазма.

7. На прикладі маломаніпульованих біотехнологічних продуктів аспірату кісткового мозку розроблено такі критерії якості та безпеки: за варіантом аспірату (поліморфний тип, помірноклітинний тип та гіпоклітинний тип) та за показником коефіцієнту ефективності посіву (показник КЕП <0,001% є незадовільним та непридатним для клінічного застосування, показник КЕП 0,001–0,003% – задовільний, показник КЕП >0,003% – хороший).Також встановлено, що оптимальним для застосування в клінічній практиці є мононуклеарна фракція.

8. Розроблено спосіб отримання дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини, який має підвищені властивості щодо стимулювання відновлення тканин людини та забезпечує рівномірний регенеративний стимул під час лікування та новий біотехнологічний продукт для субхондрального внутрішньокісткового введення на основі кісткового скаффолда, виготовленого за технологією госпітального кісткового банку та аутологічних клітинних концентратів, який має підвищені антибактеріальні та регенеративні властивості за рахунок прискорення процесів рекрутизації та проліферації, стимулювання процесів активації міграції клітин в пошкоджені тканини у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

9. Розроблено методологію обстеження пацієнтів з ост еоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій та встановлено, що у пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів ключовим є рентгенологічне обстеження, а у пацієнтів з асептичним некрозом – МРТ-дослідження, особливістю методології лабораторного обстеження є проведення онкоскринінгу з визначенням мікроРНК 21, 182 та 214, які є епігенетичними маркерами ризику онкогенезу.

10. Розроблено 13 ультразвукових доступів для колінного суглоба та 3 ультразвукові доступи для кульшового суглоба, які дозволяють візуалізувати та оптимізувати введення біотехнологічних продуктів під час застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів.

11. Для покращення технології внутрішньокісткового введення біотехнологічних продуктів розроблено навігатор для проведення шпиці, свердла та троакара, перевагами якого є полегшення та зменшення тривалості виконання інтервенції за рахунок збільшення точності введення, запобігання інтерпозиції і травмування м’яких тканин, відсутності потреби у додатковому технічному устаткуванні.

12. За результатами визначення скелетної зрілості та мікроРНК 21, як біомаркерів регенеративного потенціалу пацієнтів дитячого та підліткового віку, встановлено, що найбільш критичним для виникнення остеоартрозу є розвиток захворювань кульшового та колінного суглобів в періоді індукції пубертату, тому застосування регенеративних інтервенційних технологій показане вже зі зазначеного періоду статевого розвитку.

13. За результатами аналізу застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів розробили критерії їх якості, до яких віднесли знеболювальний ефект та його тривалість, покращення рухливості суглоба,

індекс ригідності, оцінка активності та мобільності та тривалість покращення якості життя згідно з опитувальниками, а також клінічні критерії безпеки, до яких віднесли наявність ускладнень та побічних дій.

14. Розроблено класифікацію біотехнологічних продуктів, згідно з якою усі біотехнологічні продукти поділено на 5 ліній, та класифікацію їх критеріїв якості та безпеки, які поділяються на лабораторні (морфологічні, морфогенетичні, епігенетичні, проліферативні, мікробіологічні, візуалізаційні) та клінічні, які ми розділили на дві групи: якість та безпека застосування продукту, а саме, побічні дії, ускладнення та якість та якість і безпека введення продукту, куди віднесли ультразвукову та рентгенологічну навігацію.

15. За результатами аналізу лікування пацієнтів з остеоартрозом кульшового та колінного суглобів за допомогою регенеративних інтервенційних технологій встановили, що при 1-й та 2-й стадії отримано позитивний результат для обох груп пацієнтів після застосування концентратів периферичної крові Тривалість позитивного ефекту залежала від кратності введення біотехнологічних продуктів:12 місяців при триразовому введенні та 36 місяців при шестиразовому, у пацієнтів з 3-ю стадією остеоартрозу покращення тривало до 6 місяців, тому в цієї категорії пацієнтів для отримання тривалого позитивного ефекту необхідним є застосування концентратів кісткового мозку та жирової тканини як другого етапу лікування.

16. При порівняльному аналізі регенеративних інтервенційних технологій на прикладі застосування аутологічних концентратів периферичної крові у пацієнтів з пошкодженнями менісків та 1-ю і 2-ю стадією гонартрозу з фізичною терапією, прийомом нестероїдних протизапальних засобів та артроскопічною парціальною резекцією меніска отримані результати демонструють ефективність застосування регенеративних інтервенційних технологій як у короткостроковій (до 3 місяців), так і у віддаленій перспективі (до 3 років), що відображено у покращенні функції суглоба та достовірному зменшенні рівня больового синдрому в пацієнтів.

17. За результатами аналізу лікування пацієнтів з асептичним некрозом

кульшового та колінного суглобів встановлено, що показники якості життя пацієнтів у групі, де проводилася передопераційна підготовка шляхом внутрішньосуглобового введення аутологічних концентратів периферичної крові, продемонстрували кращу динаміку щодо знеболення та покращення функції суглоба згідно з опитувальниками, ніж в групі, де проводилася виключно тунелізація з введенням мононуклеарної фракції аспірату кісткового мозку, а за результатами аналізу динаміки клінічних показників на етапах спостереження за опитувальниками якості життя залежно від стадії захворювання за Ficat встановлено достовірні показники покращення якості життя, а також знеболювальний ефект та покращення функції суглоба у пацієнтів з 1-ю та 2-ю стадією захворювання.

18. Розроблено концептуальні засади персоналізованого підходу до застосування регенеративних інтервенційних технологій. Він передбачає етапи: визначення рентгенологічної стадії остеоартрозу або МРТ-критеріїв прогнозування перебігу асептичного некрозу, встановлення переважання фенотипу остеоартрозу, визначення очікувань пацієнта від лікування, аналіз результатів лабораторного обстеження, аналіз даних анамнезу життя, вибір варіанту біотехнологічного продукту або їх комбінації, аналіз результатів опитування щодо якості життя з використанням різних шкал та аналіз результатів додаткових методів дослідження (МРТ або УЗД) для визначення внутрішньосуглобових та парасуглобових змін.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Evans CH. Advances in regenerative orthopedics. Mayo Clin Proc. 2013 Nov;88(11):1323-39. DOI: 10.1016/j.mayocp.2013.04.027.

2. Alderman D, Alexander R. Advances in regenerative medicine: High-density platelet-rich plasma and stem cell prolotherapy for musculoskeletal pain. Pract Pain Manag. 2011 Nov 3;11(8):59-90.

3. Hauser R., Woldin B. Treating Osteoarthritic Joints Using Dextrose Prolotherapy and Direct Bone Marrow Aspirate Injection Therapy. Open Arthritis Journal. 2014;7(1):1-9. DOI:10.2174/1876539401407010001

4. Rabago D, Zgierska A, Fortney L, Kijowski R, Mundt M, Ryan M, et al. Hypertonic dextrose injections (prolotherapy) for knee osteoarthritis: results of a single-arm uncontrolled study with 1-year follow-up. J Altern Complement Med. 2012 Apr;18(4):408-14. doi: 10.1089/acm.2011.0030.

5. Rabago D, Patterson JJ, Mundt M, Kijowski R, Grettie J, Segal NA, et al. Dextrose prolotherapy for knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. Ann Fam Med. 2013 May-Jun;11(3):229-37. DOI: 10.1370/afm.1504.

6. Centeno C, Markle J, Dodson E, Stemper I, Williams C, Hyzy M, et al. Symptomatic anterior cruciate ligament tears treated with percutaneous injection of autologous bone marrow concentrate and platelet products: a non-controlled registry study. J Transl Med. 2018 Sep 3;16(1):246. DOI: 10.1186/s12967-018-1623-3.

7. Manchikanti L, Centeno CJ, Atluri S, Albers SL, Shapiro S, Malanga GA, et al. Bone marrow concentrate (BMC) therapy in musculoskeletal disorders: Evidence-based policy position statement of American Society of Interventional Pain Physicians (ASIPP). Pain Physician. 2020 Mar;23(2):E85-E131.

8. Getgood A, Henson F, Skelton C, Herrera E, Brooks R, Fortier LA, et al. The augmentation of a collagen/glycosaminoglycan biphasic osteochondral scaffold with platelet-rich plasma and concentrated bone marrow aspirate for osteochondral defect repair in sheep: A pilot study. Cartilage. 2012 Oct;3(4):351-63. DOI:10.1177/1947603512444597.

9. Centeno CJ, Jerome MA, Pastoriza SM, Shapiro S, Mautner K, Malanga GA, et al. Use of bone marrow concentrate to treat pain and musculoskeletal disorders: An academic delphi investigation. Pain Physician. 2021 May;24(3):263-273.

10. Centeno CJ, Pastoriza SM. Past, current and future interventional orthobiologics techniques and how they relate to regenerative rehabilitation: a clinical commentary. Int J Sports Phys Ther. 2020 Apr;15(2):301-325. DOI:10.26603/ijspt20200301

11. Lubis AM, Lubis VK. Adult bone marrow stem cells in cartilage therapy. Acta Med Indones. 2012 Jan;44(1):62-8.

12. Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, Shahram F, Nikbin B. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. Int J Rheum Dis. 2011 May;14(2):211-5. DOI: 10.1111/j.1756-185X.2011.01599.x.

13. Centeno CJ, Busse D, Kisiday J, Keohan C, Freeman M, Karli D. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. Pain Physician. 2008 May-Jun;11(3):343-53.

14. Centeno CJ, Hyzy MW, William CJ. Bone marrow derived stem cells and their application in pain medicine. In: Diwan S, Deer T. (eds) Advanced Procedures for Pain Management. Springer, Cham; 2018; p. 469–87. https://DOI.org/10.1007/978-3-319-68841-1_40

15. Centeno CJ, Al-Sayegh H, Freeman MD, Smith J, Murrell WD, Bubnov R. A multi-center analysis of adverse events among two thousand, three hundred and seventy two adult patients undergoing adult autologous stem cell therapy for orthopaedic conditions. Int Orthop. 2016 Aug;40(8):1755-1765. DOI: 10.1007/s00264-016-3162-y.

16. Centeno CJ, Al-Sayegh H, Freeman MD, Smith J, Murrell WD, Bubnov R. Correction to: A multi-center analysis of adverse events among two thousand, three hundred and seventy two adult patients undergoing adult autologous stem cell therapy

for orthopaedic conditions. Int Orthop. 2018 Jan;42(1):223. DOI: 10.1007/s00264-017-3680-2.

17. Alderman D. Integrative Pain Management. Oxford University Press; 2016. Regenerative Injection Therapies for Pain: Traditional, Platelet Rich Plasma and Biocellular Prolotherapy; p. 345-60. https://www.prolotherapy.com/pdf-general-articles/GA-009-Regenerative-injection-therapies-for-pain-(2016).pdf

18. Bier A. Die Bedeutung des Blutergusses für die Heilung des Knochenbruches. Heilung von Pseudarthrosen und von verspäteter Callusbildung durch Bluteinspritzung Med Klinik. Urban&Schwarzenberg Berlin Med Klinik 1905:6–7.

19. Alderman D. Prolotherapy for musculoskeletal pain: A primer for pain management physicians on the mechanism of action and indications for use. Pract Pain Manag, 2007Jan-Febr:7(1):10-5.

20. Sotnikova EP, Saldan VI, Fesyunova GS. Stages of development of tissue therapy and prospects of application of biogenic preparations in practical medicine. Novyny medycyny ta farmaciji. 2010 (thematic issue).

21. The Nobel Prize. Available from: https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1986/levimontalcini/fact

22. Ferrari M, Zia S, Valbonesi M, Henriquet F, Venere G, Spagnolo S, et al. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. Int J Artif Organs. 1987 Jan;10(1):47-50.

23. Crane D, Everts P. Platelet rich plasma (PRP) matrix grafts. Pract Pain Manag. 2008;8(1):12-26.

24. Kobayashi Y, Saita Y, Nishio H, Ikeda H, Takazawa Y, Nagao M, et al. Leukocyte concentration and composition in platelet-rich plasma (PRP) influences the growth factor and protease concentrations. J Orthop Sci. 2016 Sep;21(5):683-9. DOI: 10.1016/j.jos.2016.07.009.

25. Pifer MA, Maerz T, Baker KC, Anderson K. Matrix metalloproteinase content and activity in low-platelet, low-leukocyte and high-platelet, high-leukocyte

platelet rich plasma (PRP) and the biologic response to PRP by human ligament fibroblasts. Am J Sports Med. 2014 May;42(5):1211-8. DOI: 10.1177/0363546514524710.

26. DeLong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. Arthroscopy. 2012 Jul;28(7):998-1009. DOI: 10.1016/j.arthro.2012.04.148.

27. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends Biotechnol. 2009 Mar;27(3):158-67. DOI: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009.

28. Kikuchi N, Yoshioka T, Taniguchi Y, Sugaya H, Arai N, Kanamori A, et al. Optimization of leukocyte-poor platelet-rich plasma preparation: a validation study of leukocyte-poor platelet-rich plasma obtained using different preparer, storage, and activation methods. J Exp Orthop. 2019 Jun 3;6(1):24. DOI: 10.1186/s40634-019-0190-8.

29. Htun P, Fateh-Moghadam S, Tomandl B, Handschu R, Klinger K, Stellos K, et al. Course of platelet activation and platelet-leukocyte interaction in cerebrovascular ischemia. Stroke. 2006 Sep;37(9):2283-7. DOI: 10.1161/01.STR.0000236638.75591.61.

30. Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, Fox ML, Shilale EA, Lessard DM, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol. 2001 Oct;38(4):1002-6. DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01485-1.

31. Mickelson JK, Lakkis NM, Villarreal-Levy G, Hughes BJ, Smith CW. Leukocyte activation with platelet adhesion after coronary angioplasty: a mechanism for recurrent disease? J Am Coll Cardiol. 1996 Aug;28(2):345-53. DOI: 10.1016/0735-1097(96)00164-7.

32. Ott I, Neumann FJ, Gawaz M, Schmitt M, Schömig A. Increased neutrophil-platelet adhesion in patients with unstable angina. Circulation. 1996 Sep 15;94(6):1239-46. DOI: 10.1161/01.cir.94.6.1239.

33. Singh MV, Davidson DC, Kiebala M, Maggirwar SB. Detection of circulating platelet-monocyte complexes in persons infected with human immunodeficiency virus type-1. J Virol Methods. 2012 May;181(2):170-6. DOI: 10.1016/j.jviromet.2012.02.005.

34. Joseph JE, Harrison P, Mackie IJ, Isenberg DA, Machin SJ. Increased circulating platelet-leucocyte complexes and platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Br J Haematol. 2001 Nov;115(2):451-9. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.03101.x.

35. Eder C, Schmidt-Bleek K, Geissler S, Sass FA, Maleitzke T, Pumberger M, et al. Mesenchymal stromal cell and bone marrow concentrate therapies for musculoskeletal indications: a concise review of current literature. Mol Biol Rep. 2020 Jun;47(6):4789-4814. DOI: 10.1007/s11033-020-05428-0.

36. Deng Z, Luo F, Lin Y, Luo J, Ke D, Song C, et al. Research trends of mesenchymal stem cells application in orthopedics: A bibliometric analysis of the past 2 decades. Front Public Health. 2022 Sep 26;10:1021818. DOI: 10.3389/fpubh.2022.1021818.

37. Wagner W, Wein F, Seckinger A, Frankhauser M, Wirkner U, Krause U, et al. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. Exp Hematol. 2005 Nov;33(11):1402-16. DOI: 10.1016/j.exphem.2005.07.003.

38. Xia P, Wang X, Lin Q, Li X. Efficacy of mesenchymal stem cells injection for the management of knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. Int Orthop. 2015 Dec;39(12):2363-72. DOI: 10.1007/s00264-015-2785-8.

39. Puissant B, Barreau C, Bourin P, Clavel C, Corre J, Bousquet C, et al. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. Br J Haematol. 2005 Apr;129(1):118-29. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2005.05409.x.

40. Pak J. Regeneration of human bones in hip osteonecrosis and human cartilage in knee osteoarthritis with autologous adipose-tissue-derived stem cells: a case series. J Med Case Rep. 2011 Jul 7;5:296. DOI: 10.1186/1752-1947-5-296.

41. Долгополов ОВ, Полішко ВП, Ярова МЛ. Стан та тенденції захворюваності й інвалідності внаслідок захворювань кістково-м'язової системи в Україні за період 2013-2017 рр. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2018;4(99):75-80.

42. Alan Boyde. The bone cartilage interface and osteoarthritis. Calcif Tissue Int. 2021 Sep;109(3):303-328. DOI: 10.1007/s00223-021-00866-9.

43. Arden N, Blanco FJ, Bruyère O, Cooper C, Guermazi A, Hayashi D, et al. Atlas of Osteoarthritis. London: Springer Healthcare Ltd; 2014; Chapter 1, Introduction: historical and current perspectives on osteoarthritis; p. 11-19. http://DOI.org/10.1007/978-1-910315-16-3_1

44. Shariatzadeh M, Song J, Wilson SL. The efficacy of different sources of mesenchymal stem cells for the treatment of knee osteoarthritis. Cell Tissue Res. 2019 Dec;378(3):399-410. DOI: 10.1007/s00441-019-03069-9.

45. Nurul AA, Azlan M, Ahmad Mohd Zain MR, Sebastian AA, Fan YZ, Fauzi MB. Mesenchymal stem cells: current concepts in the management of inflammation in osteoarthritis. Biomedicines. 2021 Jul 7;9(7):785. DOI: 10.3390/biomedicines9070785

46. Graham P. Avascular necrosis and bone infarcts of the knee. Orthop Nurs. 2020 Jan/Feb;39(1):59-61. DOI: 10.1097/NOR.0000000000000631. PMID: 31977744.

47. Steffen RT, Athanasou NA, Gill HS, Murray DW. Avascular necrosis associated with fracture of the femoral neck after hip resurfacing: histological assessment of femoral bone from retrieval specimens. J Bone Joint Surg Br. 2010 Jun;92(6):787-93. DOI: 10.1302/0301-620X.92B6.23377.

48. Bagan JV, Murillo J, Jimenez Y, Poveda R, Milian MA, Sanchis JM, et al. Avascular jaw osteonecrosis in association with cancer chemotherapy: series of 10

cases. J Oral Pathol Med. 2005 Feb;34(2):120-3. DOI: 10.1111/j.1600-0714.2004.00269.x.

49. Khan AA, Sándor GK, Dore E, Morrison AD, Alsahli M, Amin F, et al. Canadian taskforce on osteonecrosis of the jaw. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw. J Rheumatol. 2009 Mar;36(3):478-90. DOI: 10.3899/jrheum.080759.

50. Matthews AH, Davis DD, Fish MJ, Stitson D. Avascular Necrosis. 2023 Aug 28. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. PMID: 30725692.

51. https://blog.rehabselect.net/10-startling-statistics-on-joint-replacement surgery

52. Centeno CJ, Pitts JA, Al-Sayegh H, Freeman MD. Efficacy and safety of bone marrow concentrate for osteoarthritis of the hip; treatment registry results for 196 patients. J Stem Cell Res Ther 2014 Nov; 4:242. DOI:10.4172/2157-7633.1000242

53. Houdek MT, Wyles CC, Martin JR, Sierra RJ. Stem cell treatment for avascular necrosis of the femoral head: current perspectives. Stem Cells Cloning. 2014 Apr 9;7:65-70. DOI: 10.2147/SCCAA.S36584.

54. Gangji V, Toungouz M, Hauzeur JP. Stem cell therapy for osteonecrosis of the femoral head. Expert Opin Biol Ther. 2005 Apr;5(4):437-42. DOI: 10.1517/14712598.5.4.437.

55. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. J Oral Maxillofac Surg. 2004 Apr;62(4):489-96. DOI: 10.1016/j.joms.2003.12.003.

56. Niewczas P, Kotela A, Łęgosz P, Pirko-Kotela K, Sarzyńska S, Starczyńska M. Use of platelet-rich plasma in orthopaedics and traumatology. Medical Studies/Studia Medyczne. 2016;32(1):63–68. DOI: 10.5114/ms.2016.58808

57. Xie X, Zhang C, Tuan RS. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. Arthritis Res Ther. 2014 Feb 25;16(1):204. DOI: 10.1186/ar4493.

58. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? Implant Dent. 2001;10(4):225-8. DOI: 10.1097/00008505-200110000-00002.

59. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb Haemost. 2004 Jan;91(1):4-15. DOI: 10.1160/TH03-07-0440.

60. Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, Kushida S, Notodihardjo FZ, Kusumoto K. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts. Plast Reconstr Surg. 2008 Nov;122(5):1352-1360. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181882046.

61. Boyapati L, Wang HL. The role of platelet-rich plasma in sinus augmentation: a critical review. Implant Dent. 2006 Jun;15(2):160-70. DOI: 10.1097/01.id.0000217791.74343.60.

62. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. Plast Reconstr Surg. 2001 Jan;107(1):229-37; discussion 238-9. DOI: 10.1097/00006534-200101000-00037.

63. Martínez CE, González SA, Palma V, Smith PC. Platelet-poor and platelet-rich plasma stimulate bone lineage differentiation in periodontal ligament stem cells. J Periodontol. 2016 Feb;87(2):e18-26. DOI: 10.1902/jop.2015.150360.

64. Miroshnychenko O, Chang WT, Dragoo JL. The use of platelet-rich and platelet-poor plasma to enhance differentiation of skeletal myoblasts: Implications for the use of autologous blood products for muscle regeneration. Am J Sports Med. 2017 Mar;45(4):945-953. DOI: 10.1177/0363546516677547.

65. Cáceres M, Martínez C, Martínez J, Smith PC. Effects of platelet-rich and -poor plasma on the reparative response of gingival fibroblasts. Clin Oral Implants Res. 2012 Sep;23(9):1104-11. DOI: 10.1111/j.1600-0501.2011.02274.x.

66. Das A, Sinha M, Datta S, Abas M, Chaffee S, Sen CK, Roy S. Monocyte and macrophage plasticity in tissue repair and regeneration. Am J Pathol. 2015 Oct;185(10):2596-606. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.06.001.

67. Czakai K, Dittrich M, Kaltdorf M, Müller T, Krappmann S, Schedler A, et al. Influence of Platelet-rich Plasma on the immune response of human monocyte-derived dendritic cells and macrophages stimulated with Aspergillus fumigatus. Int J Med Microbiol. 2017 Feb;307(2):95-107. DOI: 10.1016/j.ijmm.2016.11.010.

68. Papait A, Cancedda R, Mastrogiacomo M, Poggi A. Allogeneic platelet-rich plasma affects monocyte differentiation to dendritic cells causing an anti-inflammatory microenvironment, putatively fostering wound healing. J Tissue Eng Regen Med. 2018 Jan;12(1):30-43. DOI: 10.1002/term.2361.

69. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, et al. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. J Periodontol. 2007 Apr;78(4):661-9. DOI: 10.1902/jop.2007.060302.

70. Kim YH, Furuya H, Tabata Y. Enhancement of bone regeneration by dual release of a macrophage recruitment agent and platelet-rich plasma from gelatin hydrogels. Biomaterials. 2014 Jan;35(1):214-24. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.09.103.

71. Mantovani A. Macrophage diversity and polarization.: in vivo veritas. Blood. 2006 July;108(2):408–9. https://DOI.org/10.1182/blood-2006-05-019430

72. Martinez FO, Sica A, Mantovani A, Locati M. Macrophage activation and polarization. Front Biosci. 2008 Jan 1;13:453-61. DOI: 10.2741/2692.

73. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. J Cutan Aesthet Surg. 2014 Oct-Dec;7(4):189-97. DOI: 10.4103/0974-2077.150734.

74. Dashore S, Chouhan K, Nanda S, Sharma A. Preparation of platelet-rich plasma: National IADVL PRP Taskforce Recommendations. Indian Dermatol Online J. 2021 Nov 25;12(Suppl 1):S12-S23. DOI: 10.4103/idoj.idoj_269_21.

75. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. Muscles Ligaments Tendons J. 2014 May 8;4(1):3-9.

76. Dawood AS, Salem HA. Current clinical applications of platelet-rich plasma in various gynecological disorders: An appraisal of theory and practice. Clin Exp Reprod Med. 2018 Jun;45(2):67-74. DOI: 10.5653/cerm.2018.45.2.67.

77. Giusti I, D'Ascenzo S, Mancò A, Di Stefano G, Di Francesco M, Rughetti A, et al. Platelet concentration in platelet-rich plasma affects tenocyte behavior in vitro. Biomed Res Int. 2014;2014:630870. DOI: 10.1155/2014/630870.

78. Giusti I, Rughetti A, D'Ascenzo S, Di Stefano G, Nanni MR, Millimaggi D, et al. The effects of platelet gel-released supernatant on human fibroblasts. Wound Repair Regen. 2013 Mar-Apr;21(2):300-8. DOI: 10.1111/wrr.12025.

79. Giusti I, Rughetti A, D'Ascenzo S, Millimaggi D, Pavan A, Dell'Orso L, et al. Identification of an optimal concentration of platelet gel for promoting angiogenesis in human endothelial cells. Transfusion. 2009 Apr;49(4):771-8. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.02033.x.

80. Boswell SG, Schnabel LV, Mohammed HO, Sundman EA, Minas T, Fortier LA. Increasing platelet concentrations in leukocyte-reduced platelet-rich plasma decrease collagen gene synthesis in tendons. Am J Sports Med. 2014 Jan;42(1):42-9. DOI: 10.1177/0363546513507566.

81. Berger DR, Centeno CJ, Steinmetz NJ. Platelet lysates from aged donors promote human tenocyte proliferation and migration in a concentration-dependent manner. Bone Joint Res. 2019 Feb 2;8(1):32-40. DOI: 10.1302/2046-3758.81.BJR-2018-0164.R1.

82. Paterson KL, Hunter DJ, Metcalf BR, Eyles J, Duong V, Kazsa J, et al. Efficacy of intra-articular injections of platelet-rich plasma as a symptom- and disease-modifying treatment for knee osteoarthritis - the RESTORE trial protocol. BMC Musculoskelet Disord. 2018 Jul 28;19(1):272. DOI: 10.1186/s12891-018-2205-5.

83. Pauly S, Klatte-Schulz F, Stahnke K, Scheibel M, Wildemann B. The effect of autologous platelet rich plasma on tenocytes of the human rotator cuff. BMC Musculoskelet Disord. 2018 Nov 30;19(1):422. DOI: 10.1186/s12891-018-2339-5.

84. Magalon J, Chateau AL, Bertrand B, Louis ML, Silvestre A, Giraudo L, et al. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. BMJ Open Sport Exerc Med. 2016 Feb 4;2(1):e000060. DOI: 10.1136/bmjsem-2015-000060.

85. Xu Z, Yin W, Zhang Y, Qi X, Chen Y, Xie X, et al. Comparative evaluation of leukocyte- and platelet-rich plasma and pure platelet-rich plasma for cartilage regeneration. Sci Rep. 2017 Mar 7;7:43301. DOI: 10.1038/srep43301.

86. Zhou Y, Zhang J, Wu H, Hogan MV, Wang JH. The differential effects of leukocyte-containing and pure platelet-rich plasma (PRP) on tendon stem/progenitor cells - implications of PRP application for the clinical treatment of tendon injuries. Stem Cell Res Ther. 2015 Sep 15;6(1):173. DOI: 10.1186/s13287-015-0172-4.

87. Taniguchi Y, Yoshioka T, Sugaya H, Gosho M, Aoto K, Kanamori A, et al. Growth factor levels in leukocyte-poor platelet-rich plasma and correlations with donor age, gender, and platelets in the Japanese population. J Exp Orthop. 2019 Feb 2;6(1):4. DOI: 10.1186/s40634-019-0175-7.

88. Yin W, Qi X, Zhang Y, Sheng J, Xu Z, Tao S, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte- and platelet-rich plasma in promoting repair of bone defects. J Transl Med. 2016 Mar 15;14:73. DOI: 10.1186/s12967-016-0825-9.

89. Yin WJ, Xu HT, Sheng JG, An ZQ, Guo SC, Xie XT, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte- and platelet-rich plasma in treating rabbit knee osteoarthritis. Med Sci Monit. 2016 Apr 17;22:1280-90. DOI: 10.12659/msm.898218.

90. Akeda K, An HS, Okuma M, Attawia M, Miyamoto K, Thonar EJ, et al. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. Osteoarthritis Cartilage. 2006 Dec;14(12):1272-80. DOI: 10.1016/j.joca.2006.05.008.

91. Fortier LA, Hackett CH, Cole BJ. The effects of platelet-rich plasma on cartilage: basic science and clinical application. Oper Tech Sports Med. 2011 Sept;19(3):154-9. DOI: 10.1053/j.otsm.2011.03.004

92. Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, Okudera H, et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). Int J Implant Dent. 2016 Dec;2(1):19. DOI: 10.1186/s40729-016-0052-4.

93. Dhillon RS, Schwarz EM, Maloney MD. Platelet-rich plasma therapy - future or trend? Arthritis Res Ther. 2012 Aug 8;14(4):219. DOI: 10.1186/ar3914.

94. Braun HJ, Kim HJ, Chu CR, Dragoo JL. The effect of platelet-rich plasma formulations and blood products on human synoviocytes: implications for intra-articular injury and therapy. Am J Sports Med. 2014 May;42(5):1204-10. DOI: 10.1177/0363546514525593.

95. Hooiveld MJ, Roosendaal G, van den Berg HM, Bijlsma JW, Lafeber FP. Haemoglobin-derived iron-dependent hydroxyl radical formation in blood-induced joint damage: an in vitro study. Rheumatology (Oxford). 2003 Jun;42(6):784-90. DOI: 10.1093/rheumatology/keg220.

96. Hooiveld M, Roosendaal G, Vianen M, van den Berg M, Bijlsma J, Lafeber F. Blood-induced joint damage: longterm effects in vitro and in vivo. J Rheumatol. 2003 Feb;30(2):339-44.

97. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb Haemost. 2004 Jan;91(1):4-15. DOI: 10.1160/TH03-07-0440.

98. Chaly YV, Selvan RS, Fegeding KV, Kolesnikova TS, Voitenok NN. Expression of IL-8 gene in human monocytes and lymphocytes: differential regulation by TNF and IL-1. Cytokine. 2000 Jun;12(6):636-43. DOI: 10.1006/cyto.1999.0664.

99. Crane D, Everts P. Platelet rich plasma (PRP) matrix grafts. Pract PAIN Manag. 2008 Jan/Febr;8(1):1-10.

100. de Melo BAG, Martins Shimojo AA, Marcelino Perez AG, Duarte Lana JFS, Andrade Santana MH. Distribution, recovery and concentration of platelets and

leukocytes in L-PRP prepared by centrifugation. Colloids Surf B Biointerfaces. 2018 Jan 1;161:288-295. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2017.10.046.

101. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. Plast Reconstr Surg. 2006 Nov;118(6):147e-159e. DOI: 10.1097/01.prs.0000239606.92676.cf.

102. Dahlgren LA, Mohammed HO, Nixon AJ. Temporal expression of growth factors and matrix molecules in healing tendon lesions. J Orthop Res. 2005 Jan;23(1):84-92. DOI: 10.1016/j.orthres.2004.05.007.

103 Linetsky F, Alfredson H, Crane D, Centeno CJ. Treatment of Chronic Pain by Integrative Approaches. American Academy of Pain Medicine; 2013. Chapter 81, Treatment of Chronic Painful Musculoskeletal Injuries and Diseases with Regenerative Injection Therapy (RIT): Regenerative Injection Therapy Principles and Practice; p. 145-68. DOI:10.1007/978-1-4939-1821-8_12 10.1007/978-1-4614-1560-2_81.

104. Centeno CJ, Kisiday J, Freeman M, Schultz JR. Partial regeneration of the human hip via autologous bone marrow nucleated cell transfer: A case study. Pain Physician. 2006 Jul;9(3):253-6.

105. Friedlaender GE. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. J Bone Joint Surg Am. 1987 Jun;69(5):786-90.

106. Mankin HJ, Gebhardt MC, Jennings LC, Springfield DS, Tomford WW. Long-term results of allograft replacement in the management of bone tumors. Clin Orthop Relat Res. 1996 Mar;(324):86-97. DOI: 10.1097/00003086-199603000-00011.

107. Raizman NM, O'Brien JR, Poehling-Monaghan KL, Yu WD. Pseudarthrosis of the spine. J Am Acad Orthop Surg. 2009 Aug;17(8):494-503. DOI: 10.5435/00124635-200908000-00003.

108. Slooff TJ, Buma P, Schreurs BW, Schimmel JW, Huiskes R, Gardeniers J. Acetabular and femoral reconstruction with impacted graft and cement. Clin Orthop Relat Res. 1996 Mar;(324):108-15. DOI: 10.1097/00003086-199603000-00013.

109. Abbas G, Bali SL, Abbas N, Dalton DJ. Demand and supply of bone allograft and the role of orthopaedic surgeons. Acta Orthop Belg. 2007 Aug;73(4):507-11.

110. Pruss A, Kao M, von Garrel T, Frommelt L, Gürtler L, Benedix F, et al. Virus inactivation in bone tissue transplants (femoral heads) by moist heat with the 'Marburg bone bank system'. Biologicals. 2003 Mar;31(1):75-82. DOI: 10.1016/s1045-1056(02)00095-7.

111. Гайко ГВ, Герасименко СІ, Голюк ЄЛ. Засади виготовлення алотрансплантатів за технологією локального кісткового банку. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2019;(1):68-78.

112. Герасименко СІ, Полулях МВ, Полулях ДМ. Кісткова пластика даху кульшової западини при ендопротезуванні кульшового суглоба у хворих з тяжкою дисплазією. Літопис травматології та ортопедії. 2016;(1-2):38.

113. Azi ML, Aprato A, Santi I, Kfuri M Jr, Masse A, Joeris A. Autologous bone graft in the treatment of post-traumatic bone defects: a systematic review and meta-analysis. BMC Musculoskelet Disord. 2016 Nov 9;17(1):465. DOI: 10.1186/s12891-016-1312-4.

114. Van Heest A, Swiontkowski M. Bone-graft substitutes. The Lancet. 1999 Apr 1;353:S28-9. https://DOI.org/10.1016/S0140-6736(99)90228-3

115. Vetter Sven Y., Raible Carsten, Aytac Sara, Grützner Paul Alfred, Frank Christian B. Bone banking in a traumatologic department: A ten-year analysis. Int J Biomedical Materials Research. 2014; 2(3): 15-20. DOI: 10.11648/j.ijbmr.20140203.11

116. Summers BN, Eisenstein SM. Donor site pain from the ilium. A complication of lumbar spine fusion. J Bone Joint Surg Br. 1989 Aug;71(4):677-80. DOI: 10.1302/0301-620X.71B4.2768321.

117. Younger EM, Chapman MW. Morbidity at bone graft donor sites. J Orthop Trauma. 1989;3(3):192-5. DOI: 10.1097/00005131-198909000-00002.

118. Hernigou P, Desroches A, Queinnec S, Flouzat Lachaniette CH, Poignard A, Allain J, et al. Morbidity of graft harvesting versus bone marrow aspiration in cell regenerative therapy. Int Orthop. 2014 Sep;38(9):1855-60. DOI: 10.1007/s00264-014-2318-x.

119. Tache A, Mommaerts MY. Pain management at iliac donor sites after grafting of alveolar clefts. Int J Oral Maxillofac Surg. 2022 Jan;51(1):62-69. DOI: 10.1016/j.ijom.2021.05.004.

120. Migliorini F, Cuozzo F, Torsiello E, Spiezia F, Oliva F, Maffulli N. Autologous bone grafting in trauma and orthopaedic surgery: An evidence-based narrative review. J Clin Med. 2021 Sep 24;10(19):4347. DOI: 10.3390/jcm10194347.

121. Zwitser EW, Jiya TU, George Licher H, van Royen BJ. Design and management of an orthopaedic bone bank in The Netherlands. Cell Tissue Bank. 2012 Mar;13(1):63-9. DOI: 10.1007/s10561-010-9230-4.

122. Meermans G, Roos J, Hofkens L, Cheyns P. Bone banking in a community hospital. Acta Orthop Belg. 2007 Dec;73(6):754-9.

123. Komender J, Malczewska H, Komender A. Bone banking for transplantation in orthopaedic reconstructions. Ann Transplant. 1996;1(1):70-2.

124. Official journal of European Union. Dirrective 2004/23/EC of the European Parliament and of the Counsil. 7.4.2004. L 102/48-102/58

125. Official journal of European Union. Comission Dirrective 2006/17/EC. 9.2.2006. L 38/40-38/52

126. Official Journal of European Union. Comission Dirrective 2006/86/EC. 25.10.2006. L 294/32-294/50

127. The American Association of Tissue Banks. Available from: https://www.aatb.org

128. Boyce T, Edwards J, Scarborough N. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. Orthop Clin North Am. 1999 Oct;30(4):571-81. DOI: 10.1016/s0030-5898(05)70110-3.

129. Baldwin P, Li DJ, Auston DA, Mir HS, Yoon RS, Koval KJ. Autograft, allograft, and bone graft substitutes: Clinical evidence and indications for use in the setting of orthopaedic trauma surgery. J Orthop Trauma. 2019 Apr;33(4):203-213. DOI: 10.1097/BOT.0000000000001420.

130. Vining NC, Warme WJ, Mosca VS. Comparison of structural bone autografts and allografts in pediatric foot surgery. J Pediatr Orthop. 2012 Oct-Nov;32(7):719-23. DOI: 10.1097/BPO.0b013e31824b6c82.

131. Cavallo M, Maglio M, Parrilli A, Pagani S, Martini L, Castagnini F, et al. Vascular supply and bone marrow concentrate for the improvement of allograft in bone defects: A comparative in vivo study. J Surg Res. 2020 Aug;252:1-8. DOI: 10.1016/j.jss.2020.02.015.

132. Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині. Відомості Верховної Ради (ВВР). 2018; №28, ст.232. https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2427-19#Text

133. European Association of Musculoskeletal Transplantation. Common standards for musculoskeletal tissue banking. Vienna, European Association of Tissue Banks and European Association of Musculoskeletal Transplantation, 1997.

134 European Union: Directive 2004/23/EC of the European parliament and of the council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Official Journal of EurUnion 2004, L102:48–58. https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:102:0048:0058:en:PDF

135. Pink F, Warwick RM, Purkis J, Pearson J. Donor exclusion in the National Blood Service Tissue Services living bone donor programme. Cell Tissue Bank. 2006;7(1):11-21. DOI: 10.1007/s10561-005-2362-2.

136. Galea G, Kopman D, Graham B. Supply and demand of bone allograft for revision hip surgery in Scotland. J Bone Joint Surg [Br]. 1998;80-B:595-9. DOI: 10.1302/0301-620x.80b4.8240

137. Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Голюк ЄЛ. Особливості перебігу та лікування юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки в залежності від періоду статевого розвитку. Травма. 2008;9(3):271-6.

138. Філіпчук ВВ, Науменко НО, Голюк ЄЛ. Методика визначення скелетної зрілості за рентгенограмами таза та кульшових суглобів. Проблеми остеології. 2005;7(1-3):20-24.

139. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Бабко ОІ. Залежність перебігу юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки та дисплазії кульшових суглобів у пацієнтів підліткового віку. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2007;(1):38-42.

140. Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Голюк ЄЛ. Дослідження гормонального статусу та статевого розвитку пацієнтів підліткового віку з захворюваннями кульшового суглоба. Травма. 2007;8(2):222-5.

141. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Хархун ММ. Диференційований підхід до профілактичного епіфізіодезу головки стегнової кістки при юнацькому епіфізеолізі. Збірник наукових праць. Міжнародна конференція з актуальних проблем артрології та вертебрології. 2007, с. 187-91.

142. Філіпчук ВВ, Науменко НО, Кабацій МС, Голюк ЄЛ. Визначення скелетної зрілості підлітків за рентгенограмами кісток таза та кульшових суглобів (методичні рекомендації). К.: ВПЦ Експрес; 2009. 32 с.

143. Elbehidy RM, Youssef DM, El-Shal AS, Shalaby SM, Sherbiny HS, Sherief LM, et al. MicroRNA-21 as a novel biomarker in diagnosis and response to therapy in asthmatic children. Mol Immunol. 2016 Mar;71:107-114. DOI: 10.1016/j.molimm.2015.12.015.

144. Ameis D, Khoshgoo N, Iwasiow BM, Snarr P, Keijzer R. MicroRNAs in lung development and disease. Paediatr Respir Rev. 2017 Mar;22:38-43. DOI: 10.1016/j.prrv.2016.12.002.

145. Hackl M, Heilmeier U, Weilner S, Grillari J. Circulating microRNAs as novel biomarkers for bone diseases - complex signatures for multifactorial diseases? Mol Cell Endocrinol. 2016 Sep 5;432:83-95. DOI: 10.1016/j.mce.2015.10.015.

146. Kopańska M, Szala D, Czech J, Gabło N, Gargasz K, Trzeciak M, et al. MiRNA expression in the cartilage of patients with osteoarthritis. J Orthop Surg Res. 2017 Mar 28;12(1):51. DOI: 10.1186/s13018-017-0542-y.

147 Le LT, Swingler TE, Clark IM. Review: the role of microRNAs in osteoarthritis and chondrogenesis. Arthritis Rheum. 2013 Aug;65(8):1963-74. DOI: 10.1002/art.37990.

148. Barter MJ. Woods S, Young DA. MicroRNA in Chondrogenesis, Cartilage and Osteoarthritis. Current Rheumatology Reviews. 2012;8(2):89-97. DOI: 10.2174/157339712802083821

149. Chen D, Shen J, Hui T. Epigenetic and microRNA regulation during osteoarthritis development. F1000Res. 2015 Oct 20;4:F1000 Faculty Rev-1092. DOI: 10.12688/f1000research.6548.1.

150. Kwak YH, Kwak DK, Kim NY, Kim YJ, Lim JS, Yoo JH. Significant changes in synovial fluid microRNAs after high tibial osteotomy in medial compartmental knee osteoarthritis: Identification of potential prognostic biomarkers. PLoS One. 2020 Jan 10;15(1):e0227596. DOI: 10.1371/journal.pone.0227596.

151. Asahara H. Current Status and Strategy of microRNA Research for Cartilage Development and Osteoarthritis Pathogenesis. J Bone Metab. 2016 Aug;23(3):121-7. DOI: 10.11005/jbm.2016.23.3.121.

152. Swingler TE, Wheeler G, Carmont V, Elliott HR, Barter MJ, Abu-Elmagd M, et al. The expression and function of microRNAs in chondrogenesis and osteoarthritis. Arthritis Rheum. 2012 Jun;64(6):1909-19. DOI: 10.1002/art.34314.

153. Hong E, Reddi AH. MicroRNAs in chondrogenesis, articular cartilage, and osteoarthritis: implications for tissue engineering. Tissue Eng Part B Rev. 2012 Dec;18(6):445-53. DOI: 10.1089/ten.TEB.2012.0116.

154 Dong S, Yang B, Guo H, Kang F. MicroRNAs regulate osteogenesis and chondrogenesis. Biochem Biophys Res Commun. 2012 Feb 24;418(4):587-91. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.075.

155. Zhang Y, Jia J, Yang S, Liu X, Ye S, Tian H. MicroRNA-21 controls the development of osteoarthritis by targeting GDF-5 in chondrocytes. Exp Mol Med. 2014 Feb 28;46(2):e79. DOI: 10.1038/emm.2013.152.

156. Klinge CM. Estrogen regulation of MicroRNA expression. Curr Genomics. 2009 May;10(3):169-83. DOI: 10.2174/138920209788185289.

157. Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P, Allen C, Parish J, Ladher R, et al. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. Development. 1999 Mar;126(6):1305-15. DOI: 10.1242/dev.126.6.1305.

158. Baur ST, Mai JJ, Dymecki SM. Combinatorial signaling through BMP receptor IB and GDF5: shaping of the distal mouse limb and the genetics of distal limb diversity. Development. 2000 Feb;127(3):605-19. DOI: 10.1242/dev.127.3.605.

159. Loughlin J. Genetic indicators and susceptibility to osteoarthritis. Br J Sports Med. 2011 Apr;45(4):278-82. DOI: 10.1136/bjsm.2010.081059.

160. Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, Kubo T, Takatori Y, Saito S, et al. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. Nat Genet. 2007 Apr;39(4):529-33. DOI: 10.1038/2005.

161. Valdes AM, Evangelou E, Kerkhof HJ, Tamm A, Doherty SA, Kisand K, et al. The GDF5 rs143383 polymorphism is associated with osteoarthritis of the knee with genome-wide statistical significance. Ann Rheum Dis. 2011 May;70(5):873-5. DOI: 10.1136/ard.2010.134155.

162. Francis-West PH, Parish J, Lee K, Archer CW. BMP/GDF-signalling interactions during synovial joint development. Cell Tissue Res. 1999 Apr;296(1):111-9. DOI: 10.1007/s004410051272.

163 Zhang M, Lygrisse K, Wang J. Role of MicroRNA in osteoarthritis. J Arthritis. 2017 Apr;6(2):239. DOI: 10.4172/2167-7921.1000239.

164 Nugent M. MicroRNAs: exploring new horizons in osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2016 Apr;24(4):573-80. DOI: 10.1016/j.joca.2015.10.018.

165. Williams CJ, Sussmam WL, Pitts J. Atlas of Interventional Orthopedics Procedures. Essential Guide for Fluoroscopy and Ultrasoud-Guided Procedures. Elsevier 2022. p. 36-62.

166. Centeno CJ, Williams CJ, Hyzy M. Interventional orthopedics in pain medicine practice. Techniques in Regional anesthesia and pain management. 2015 Jan–Apr;19(1-2):26-31. DOI: 10.1053/j.trap.2016.09.005

167. Centeno C. What is interventional Orthopedics? Available from: https://www.youtube.com/watch?v=e6fMXKsELT8

168. Di Matteo B, Polignano A, Onorato F, La Porta A, Iacono F, Bonanzinga T, et al. Knee intraosseous injections: A systematic review of clinical evidence of different treatment alternatives. Cartilage. 2021 Dec;13(1_suppl):1165S-1177S. DOI: 10.1177/1947603520959403.

169. Rajeev PB, Jyothiprasanth M, Savio Albin, Valsan Shery, Jithin CR. A minimally invasive technique of core decompression and cancellous bone grafting of femoral head osteonecrosis. J Orthopaedic Rep. 2024 Dec;3(4):100318. DOI: 10.1016/j.jorep.2024.100318

170. Dragoo JL, Hirpara A, Constantine E, Williams KG, Fry SA, Kandil R. Intraosseous treatment of bone marrow lesions in the knee: Surgical technique. Arthrosc Tech. 2024 Mar 18;13(6):102965. DOI: 10.1016/j.eats.2024.102965.

171. Sánchez M, Fiz N, Guadilla J, Padilla S, Anitua E, Sánchez P, et al. Intraosseous infiltration of platelet-rich plasma for severe knee osteoarthritis. Arthrosc Tech. 2014 Dec 15;3(6):e713-7. DOI: 10.1016/j.eats.2014.09.006.

172. Fiz N, Delgado D, Garate A, Sánchez P, Oraa J, Bilbao AM, et al. Intraosseous infiltrations of Platelet-Rich Plasma for severe hip osteoarthritis: A pilot study. J Clin Orthop Trauma. 2020 Jul;11(Suppl 4):S585-S590. DOI: 10.1016/j.jcot.2019.12.012.

173. Tan HY, Wang N, Li S, Hong M, Wang X, Feng Y. The Reactive Oxygen Species in macrophage polarization: reflecting its dual role in progression and treatment of human diseases. Oxid Med Cell Longev. 2016;2016:2795090. DOI: 10.1155/2016/2795090.

174. Reiner Neil E. Macrophages and dendritic cells. Methods and Protocols. NY: Humana Press. 2009; 368 p.

175 Bowen JE. Technical issues in harvesting and concentrating stem cells (bone marrow and adipose). PM R. 2015 Apr;7(4 Suppl):S8-S18. DOI: 10.1016/j.pmrj.2015.01.025.

176. Vareniuk IM, Dzerzhynskyi MYe. The methods of cytohistologic diagnostic. Kyiv: “Interservice”, 2019; 256 p.

177. Knaepler H, von Garrel T. Marburg Bonebank-System for thermal disinfection of allogenic femoral allografts from surgical (living) donors. Instruction for Use. 2007. 18 p.

178. Fedoroff S, Richardson A. Colony cultures: Plating efficiency assay and cloning. Springer protocols. 2001; 23: 307-315.

179 Araki J, Jona M, Eto H, Aoi N, Kato H, Suga H, et al. Optimized preparation method of platelet-concentrated plasma and noncoagulating platelet-derived factor concentrates: maximization of platelet concentration and removal of fibrinogen. Tissue Eng Part C Methods. 2012 Mar;18(3):176-85. DOI: 10.1089/ten.TEC.2011.0308.

180 Fukaya M, Ito A. A new economic method for preparing platelet-rich plasma. Plast Reconstr Surg Glob Open. 2014 Jul 9;2(6):e162. DOI: 10.1097/GOX.0000000000000109.

181 Vega-Avila E, Pugsley MK. An overview of colorimetric assay methods used to assess survival or proliferation of mammalian cells. Proc West Pharmacol Soc. 2011;54:10-4.

182 McClelland RA, Wilson D, Leake R, Finlay P, Nicholson RI. A multicentre study into the reliability of steroid receptor immunocytochemical assay quantification. British Quality Control Group. Eur J Cancer. 1991;27(6):711-5. DOI: 10.1016/0277-5379(91)90171-9.

183. https://www.orthopaedicscore.com/

184 Hinzman J, Kupatz P. Standardenbenen der Sonografie der Bewegungsorgane/ 2-nd ed., Thieme Verlag KG, Stuttgart, Germany. 2012. 144 p.

185. Філіпчук ВВ, Крєслов ОІ., Озеров ІО, Голюк ЄЛ. Новий опитувальник для визначення функції кульшового суглоба у дітей та підлітків. Український медичний альманах. 2011;14(2):220-4.

186. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Немеш ММ. Методика визначення скелетної зрілості у дітей та підлітків за рентгенограмами колінних суглобів. Літопис травматології та ортопедії. 2014;(1-2):37-40.

187. Ракуха АВ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС. Вплив препаратів збагаченої та збідненої на тромбоцити плазми на метаболічний профіль моноцитів аутологічної периферичної крові людини *in vitro*. Вісник Одеського Національного університету. 2017;22(1(40)):103-14. DOI 10.18524/2077-1746.2017.1(40).96527

188. Vega MA, Corbi AL. Human macrophage activation: too many functions and phenotypes for a single cell type. Immunologia. 2006;25:248–72.

189. Yang GY, Taboada S, Liao J. Induced nitric oxide synthase as a major player in the oncogenic transformation of inflamed tissue. Methods Mol Biol. 2009;512:119-56. DOI: 10.1007/978-1-60327-530-9_8.

190. Holiuk Ye, Yavorovska V, Bezdeneznykh N, Kozak T., Saulenko K. TGF-β1 level in platelet-rich plasma in patients with diseases and injuries of the musculoskeletal system. Cell Organ Transplantol. 2019;7(2):113-116. DOI: 10.22494/cot.v7i2.104

191. Wang W, Rigueur D, Lyons KM. TGFβ signaling in cartilage development and maintenance. Birth Defects Res C Embryo Today. 2014 Mar;102(1):37-51. DOI: 10.1002/bdrc.21058.

192. Cherian JJ, Parvizi J, Bramlet D, Lee KH, Romness DW, Mont MA. Preliminary results of a phase II randomized study to determine the efficacy and safety of genetically engineered allogeneic human chondrocytes expressing TGF-β1 in patients with grade 3 chronic degenerative joint disease of the knee. Osteoarthritis Cartilage. 2015 Dec;23(12):2109-2118. DOI: 10.1016/j.joca.2015.06.019.

193. Lee MC, Ha CW, Elmallah RK, Cherian JJ, Cho JJ, Kim TW, et al. A placebo-controlled randomised trial to assess the effect of TGF-ß1-expressing chondrocytes in patients with arthritis of the knee. Bone Joint J. 2015 Jul;97-B(7):924-32. DOI: 10.1302/0301-620X.97B7.35852.

194. Tuli R, Tuli S, Nandi S, Huang X, Manner PA, Hozack WJ, et al. Transforming growth factor-beta-mediated chondrogenesis of human mesenchymal progenitor cells involves N-cadherin and mitogen-activated protein kinase and Wnt signaling cross-talk. J Biol Chem. 2003 Oct 17;278(42):41227-36. DOI: 10.1074/jbc.M305312200.

195. Fang D, Jin P, Huang Q, Yang Y, Zhao J, Zheng L. Platelet-rich plasma promotes the regeneration of cartilage engineered by mesenchymal stem cells and collagen hydrogel via the TGF-β/SMAD signaling pathway. J Cell Physiol. 2019 Sep;234(9):15627-15637. DOI: 10.1002/jcp.28211.

196. Gumucio JP, Sugg KB, Mendias CL. TGF-β superfamily signaling in muscle and tendon adaptation to resistance exercise. Exerc Sport Sci Rev. 2015 Apr;43(2):93-9. DOI: 10.1249/JES.0000000000000041.

197. Tang Y, Wu X, Lei W, Pang L, Wan C, Shi Z, et al. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. Nat Med. 2009 Jul;15(7):757-65. DOI: 10.1038/nm.1979.

198. Crane JL, Xian L, Cao X. Role of TGF-β Signaling in Coupling Bone Remodeling. Methods Mol Biol. 2016;1344:287-300. DOI: 10.1007/978-1-4939-2966-5_18.

199. Poniatowski ŁA, Wojdasiewicz P, Gasik R, Szukiewicz D. Transforming growth factor Beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications. Mediators Inflamm. 2015;2015:137823. DOI: 10.1155/2015/137823.

200. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. J Craniomaxillofac Surg. 2002 Apr;30(2):97-102. DOI: 10.1054/jcms.2002.0285.

201. Taniguchi Y, Yoshioka T, Sugaya H, Gosho M, Aoto K, Kanamori A, et al. Growth factor levels in leukocyte-poor platelet-rich plasma and correlations with donor age, gender, and platelets in the Japanese population. J Exp Orthop. 2019 Feb 2;6(1):4. DOI: 10.1186/s40634-019-0175-7.

202. Evanson JR, Guyton MK, Oliver DL, Hire JM, Topolski RL, Zumbrun SD, et al. Gender and age differences in growth factor concentrations from platelet-rich plasma in adults. Mil Med. 2014 Jul;179(7):799-805. DOI: 10.7205/MILMED-D-13-00336.

203. Rohman G, Langueh C, Ramtani S, Lataillade JJ, Lutomski D, Senni K, et al. The use of platelet-rich plasma to promote cell recruitment into low-molecular-weight fucoidan-functionalized poly(ester-urea-urethane) scaffolds for soft-tissue engineering. Polymers (Basel). 2019 Jun 9;11(6):1016. DOI: 10.3390/polym11061016.

204. Yavorovska V, Holiuk Ye, Magomedov O, Salmanova K, Saulenko K. The blood cells count in leukocyte and leukocyte-poor platelet-concentrated plasma in patients with musculoskeletal disorders. Cell and Organ Transplantology. 2020;8(1):13-19. DOI: 10.22494/cot.v8i1.104

205. Wang SZ, Fan WM, Jia J, Ma LY, Yu JB, Wang C. Is exclusion of leukocytes from platelet-rich plasma (PRP) a better choice for early intervertebral disc regeneration? Stem Cell Res Ther. 2018 Jul 18;9(1):199. DOI: 10.1186/s13287-018-0937-7.

206. Yuan T, Guo SC, Han P, Zhang CQ, Zeng BF. Applications of leukocyte- and platelet-rich plasma (L-PRP) in trauma surgery. Curr Pharm Biotechnol. 2012 Jun;13(7):1173-84. DOI: 10.2174/138920112800624445.

207. Assirelli E, Filardo G, Mariani E, Kon E, Roffi A, Vaccaro F, et al. Effect of two different preparations of platelet-rich plasma on synoviocytes. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2015 Sep;23(9):2690-703. DOI: 10.1007/s00167-014-3113-3.

208. Pochini AC, Antonioli E, Bucci DZ, Sardinha LR, Andreoli CV, Ferretti M, et al. Analysis of cytokine profile and growth factors in platelet-rich plasma obtained by open systems and commercial columns. Einstein (Sao Paulo). 2016 Jul-Sep;14(3):391-397. DOI: 10.1590/S1679-45082016AO3548.

209. Moatshe G, Morris ER, Cinque ME, Pascual-Garrido C, Chahla J, Engebretsen L, et al. Biological treatment of the knee with platelet-rich plasma or bone marrow aspirate concentrates. Acta Orthop. 2017 Dec;88(6):670-674. DOI: 10.1080/17453674.2017.1368899.

210. Pauly S, Klatte-Schulz F, Stahnke K, Scheibel M, Wildemann B. The effect of autologous platelet rich plasma on tenocytes of the human rotator cuff. BMC Musculoskelet Disord. 2018 Nov 30;19(1):422. DOI: 10.1186/s12891-018-2339-5.

211. Noh KC, Liu XN, Zhuan Z, Yang CJ, Kim YT, Lee GW, et al. Leukocyte-poor platelet-rich plasma-derived growth factors enhance human fibroblast proliferation *in vitro*. Clin Orthop Surg. 2018 Jun;10(2):240-247. DOI: 10.4055/cios.2018.10.2.240.

212. Samson M, Fraser W, Lebowitz D. Treatments for primary immune thrombocytopenia: A review. Cureus. 2019 Oct 6;11(10):e5849. DOI: 10.7759/cureus.5849.

213. Vitale C, Montalbano MC, Salvetti C, Boccellato E, Griggio V, Boccadoro M, et al. Autoimmune complications in chronic lymphocytic leukemia in the era of targeted drugs. Cancers (Basel). 2020 Jan 23;12(2):282. DOI: 10.3390/cancers12020282.

214. Xu X, Zheng L, Yuan Q, Zhen G, Crane JL, Zhou X, et al. Transforming growth factor-β in stem cells and tissue homeostasis. Bone Res. 2018 Jan 31;6:2. DOI: 10.1038/s41413-017-0005-4.

215. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowaniec DM, Dugdale EM, Hansen D, Cote MP, et al. The positive effects of different platelet-rich plasma methods on human muscle, bone, and tendon cells. Am J Sports Med. 2012 Aug;40(8):1742-9. DOI: 10.1177/0363546512452713.

216. Yin W, Qi X, Zhang Y, Sheng J, Xu Z, Tao S, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte- and platelet-rich plasma in promoting repair of bone defects. J Transl Med. 2016 Mar 15;14:73. DOI: 10.1186/s12967-016-0825-9.

217. Zhang L, Chen S, Chang P, Bao N, Yang C, Ti Y, et al. Harmful effects of leukocyte-rich platelet-rich plasma on rabbit tendon stem cells in vitro. Am J Sports Med. 2016 Aug;44(8):1941-51. DOI: 10.1177/0363546516644718.

218. Mariani E, Canella V, Cattini L, Kon E, Marcacci M, Di Matteo B, et al. Leukocyte-rich platelet-rich plasma injections do not up-modulate intra-articular pro-inflammatory cytokines in the osteoarthritic knee. PLoS One. 2016 Jun 3;11(6):e0156137. DOI: 10.1371/journal.pone.0156137.

219. Strafun S, Holiuk Ye, Pschenychny T. Protocol for the examination and selection of potential living donors of bone tissue for the production of allografts. Cell and Organ Transplantology. 2022;10(2):108-113. DOI: 10.22494/cot.v10i2.145

220. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА, Бездєнєжних НО, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб приготування кісткового матриксу. Патент на корисну модель № 115103. 2017 квітень 10.

221. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА, Бездєнєжних НО, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб приготування кісткового матриксу. Патент на корисну модель № 115104. 2017 квітень 10.

222. Bezdieniezhnykh N, Holiuk Ye, Gerasymenko S, Saulenko K, Mayko V, Lykhova O. Evaluation of in vitro biocompatibility of scaffolds for the repair of bone defects. Cell and Organ Transplantology. 2021;9(2):96-102. DOI: 10.22494/cot.v9i2.128

223. Finoli A, Schmelzer E, Over P, Nettleship I, Gerlach JC. Open-porous hydroxyapatite scaffolds for three-dimensional culture of human adult liver cells. Biomed Res Int. 2016;2016:6040146. DOI: 10.1155/2016/6040146.

224. Eckl PM, Whitcomb WR, Michalopoulos G, Jirtle RL. Effects of EGF and calcium on adult parenchymal hepatocyte proliferation. J Cell Physiol. 1987 Aug;132(2):363-6. DOI: 10.1002/jcp.1041320225.

225. Moreau MF, Gallois Y, Baslé MF, Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. Biomaterials. 2000 Feb;21(4):369-76. DOI: 10.1016/s0142-9612(99)00193-3.

226. Gardin C, Ricci S, Ferroni L, Guazzo R, Sbricoli L, De Benedictis G, et al. Decellularization and delipidation protocols of bovine bone and pericardium for bone grafting and guided bone regeneration procedures. PLoS One. 2015 Jul 20;10(7):e0132344. DOI: 10.1371/journal.pone.0132344.

227. Straum OK. The optimal platelet concentration in platelet-rich plasma for proliferation of human cells in vitro-diversity, biases, and possible basic experimental principles for further research in the field: A review. PeerJ. 2020 Nov 13;8:e10303. DOI: 10.7717/peerj.10303.

228. Chappard D, Fressonnet C, Genty C, Baslé MF, Rebel A. Fat in bone xenografts: importance of the purification procedures on cleanliness, wettability and biocompatibility. Biomaterials. 1993 Jun;14(7):507-12. DOI: 10.1016/0142-9612(93)90238-w.

229. Qian Y, Han Q, Chen W, Song J, Zhao X, Ouyang Y, et al. Platelet-rich plasma derived growth factors contribute to stem cell differentiation in musculoskeletal regeneration. Front Chem. 2017 Oct 31;5:89. DOI: 10.3389/fchem.2017.00089.

230. Alves R, Grimalt R. A review of platelet-rich plasma: History, biology, mechanism of action, and classification. Skin Appendage Disord. 2018 Jan;4(1):18-24. DOI: 10.1159/000477353.

231. Amy S. Wasterlain, Hillary J.Braun, Jason L. Dragoo. Contents and Formulations of Platelet-Rich Plasma. Operative Techniques in Orthopaedics. 2012 March;22(1):33-42. DOI: 10.1053/j.oto.2011.11.001

232. Казакова ВС, Новіков ОО, Жилякова ЕТ. Перспективи використання факторів росту в регенерації кісткової тканини. Огляд літератури. Результат дослідження. Серія «Медицина та фармація». 2015;1(3):151-158. DOI: 10.18413/2313-8955-2015-1-3-151-158.

233. Wu M, Chen G, Li YP. TGF-β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. Bone Res. 2016 Apr 26;4:16009. doi: 10.1038/boneres.2016.9.

234. Holiuk Ye, Strafun S, Lushchii O, Ostapenko T, Smorzhevskyi V. Development of classification and criteria of quality and safety of autologous platelet concentrates for regenerative injection therapy in traumatology and orthopedics. Cell and Organ Transplantology. 2024;12(2):76-83. DOI: 10.22494/cot.v12i2.167

235. Kim GB, Seo MS, Park WT, Lee GW. Bone marrow aspirate concentrate: Its uses in osteoarthritis. Int J Mol Sci. 2020 May 2;21(9):3224. DOI: 10.3390/ijms21093224.

236. Jindal K, Aggarwal S, Kumar P, Rathod P. Core decompression with bone marrow aspirate concentrate in post collapse avascular necrosis of hip: A systematic review and meta-analysis. J Clin Orthop Trauma. 2021 Feb 17;17:78-87. DOI: 10.1016/j.jcot.2021.02.010.

237. Pooja Pithadia. Safety and Efficacy of BMAC and Adipose-Derived MSCs Treatment in Combination for Knee Osteoarthritis. Ame J Surg Clin Case Rep. 2022 Oct;5(11):1-6.

238. Brozovich A, Sinicrope BJ, Bauza G, Niclot FB, Lintner D, Taraballi F, et al. High variability of mesenchymal stem cells obtained via bone marrow aspirate concentrate compared with traditional bone marrow aspiration technique. Orthop J Sports Med. 2021 Dec 6;9(12):23259671211058459. DOI: 10.1177/23259671211058459.

239. Goodman SB, Zwingenberger S. Concentrated autologous bone marrow aspirate is not "stem cell" therapy in the repair of nonunions and bone defects. Biomater Biosyst. 2021 Apr 8;2:100017. DOI: 10.1016/j.bbiosy.2021.100017.

240. Schäfer R, DeBaun MR, Fleck E, Centeno CJ, Kraft D, Leibacher J, et al. Quantitation of progenitor cell populations and growth factors after bone marrow aspirate concentration. J Transl Med. 2019 Apr 8;17(1):115. DOI: 10.1186/s12967-019-1866-7.

241. Sugaya H, Yoshioka T, Kato T, Taniguchi Y, Kumagai H, Hyodo K, et al. Comparative analysis of cellular and growth factor composition in bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich plasma. Bone Marrow Res. 2018 Feb 25;2018:1549826. DOI: 10.1155/2018/1549826.

242. Голюк ЄЛ, Поляченко ЮВ, Страфун СС, Гайович ІВ, Пшеничний ТЄ. Концептуальні засади застосування регенеративних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2021;(3):20-27. DOI:10.37647/0132-2486-2021-110-3-20-27

243. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Сауленко КО, Магомедов СМ, Лущій ОМ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Поліщук ЛВ, Бєздєнєжних НО, Лихова ОО, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб приготування дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини. Патент на корисну модель №152869. 2023 квітень 19.

244. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА, Бездєнєжних НО, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб приготування кісткового матриксу. Патент на корисну модель №115102. 2017 квітень 10.

245. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Таранюк ОВ, Бондарєв ГГ, Маслова ТС. Виготовлення алогенних кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку (методичні рекомендації). Київ, 2023. 24 с.

246. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб застосування кісткового матриксу. Патент на корисну модель №115167. 2017 квіт 10.

247. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб

застосування кісткового матриксу. Патент на корисну модель №115168. 2017 квіт 10.

248. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб застосування кісткового матриксу. Патент на корисну модель №115169. 2017 квіт 10.

249. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб застосування кісткового матриксу. Патент на корисну модель №115170. 2017 квіт 10.

250. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ, винахідники; Голюк ЄЛ, патентовласник. Спосіб застосування кісткового матриксу. Патент на корисну модель №115171. 2017 квіт 10.

251. Страфун СС, Голюк ЄЛ. Методологія обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій. Terra Orthopaedica, 2023;(3):22-31. DOI:10.37647/2786-7595-2023-118-3-22-31

252. Kellgren J, Lawrence J. Radiological Assessment of Osteo-Arthrosis. Ann Rheum Dis. 1957;16(4):494-502. DOI:10.1136/ard.16.4.494

253. Kohn MD, Sassoon AA, Fernando ND. Classifications in brief: kellgren-lawrence classification of osteoarthritis. Clin Orthop Relat Res. 2016 Aug;474(8):1886-93. DOI: 10.1007/s11999-016-4732-4.

254. Schiphof D, Boers M, Bierma-Zeinstra S. Differences in descriptions of kellgren and lawrence grades of knee osteoarthritis. Ann Rheum Dis. 2008;67(7):1034-1036. DOI:10.1136/ard.2007.079020

255. Sangha O. Epidemiology of rheumatic diseases. Rheumatology. 2000 Dec;39(suppl_2):3-12. DOI:10.1093/rheumatology/39.suppl_2.3

256. Ombregt Ludwig, Pierre Bisschop, Herman J. ter Veer. A system of orthopaedic medicine. Elsevier Health Sciences, 2003. ISBN: 0443073708, 9780443073700.

257. Ficat RP, Arlet J. Necrosis of the femoral head. In: Hungerford DS, eds. Ischemia and necrosis of bone. Baltimore, Md: Williams & Wilkins, 1980; 171-182.

258. Jawad MU, Haleem AA, Scully SP. In brief: Ficat classification: avascular necrosis of the femoral head. Clin Orthop Relat Res. 2012 Sep;470(9):2636-9. DOI: 10.1007/s11999-012-2416-2.

259. Seyed B. Mostofi. Who's Who in Orthopedics. Springer; 2005th ed. Oct 2004. 406 p.

260. Murphey M, Foreman K, Klassen-Fischer M, Fox M, Chung E, Kransdorf M. From the Radiologic Pathology Archives Imaging of Osteonecrosis: Radiologic-Pathologic Correlation. Radiographics. 2014 Jul-Aug;34(4):1003-28. DOI:10.1148/rg.344140019

261. Yoon BH, Mont MA, Koo KH, Chen CH, Cheng EY, Cui Q, et al. The 2019 revised version of association research circulation osseous staging system of osteonecrosis of the femoral head. J Arthroplasty. 2020 Apr;35(4):933-940. DOI: 10.1016/j.arth.2019.11.029.

262. Steinberg ME, Hayken GD, Steinberg DR. A quantitative system for staging avascular necrosis. J Bone Joint Surg Br. 1995 Jan;77 (1): 34-41.

263. Mitchell DG, Rao VM, Dalinka MK, Spritzer CE, Alavi A, Steinberg ME, et al. Femoral head avascular necrosis: correlation of MR imaging, radiographic staging, radionuclide imaging, and clinical findings. Radiology. 1987 Mar;162(3):709-15.

264. Dähnert W. Radiology review manual. Lippincott Williams & Wilkins; 2011. 1264 p.

265 Khanna AJ, Yoon TR, Mont MA, Hungerford DS, Bluemke DA. Femoral head osteonecrosis: Detection and grading by using a rapid MR imaging protocol 1. Radiology. 2000 Oct;217(1):188-92. DOI: 10.1148/radiology.217.1.r00oc26188.

266. Kuroda Y, Tanaka T, Miyagawa T, Kawai T, Goto K, Tanaka S, et al. Classification of osteonecrosis of the femoral head: Who should have surgery? Bone Joint Res. 2019 Nov 2;8(10):451-458. DOI: 10.1302/2046-3758.810.BJR-2019-0022.R1.

267. Strafun S, Haiko O, Holiuk Ye, Klymchuk L, Maslova T. Ultrasound-guided accesses for regenerative injection therapy of the hip and knee. Cell and Organ Transplantology. 2024;12(1):28-37. DOI: 10.22494/cot.v12i1.164

268. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Маслова ТС, Мельник МВ, Пшеничний ТЄ, винахідники. Навігатор для проведення троакара при тунелізації проксимального відділу стегнової кістки. Патент на корисну модель №155438. 2024 лютого 28.

269. Holiuk Ye, Melnyk M, Filipchuk V, Ostapenko T, Strafun S. Skeletal maturity as a biomarker for determining indications for regenerative interventional technologies in adolescent patients with hip and knee diseases. Cell and Organ Transplantology. 2023;11(1):14-24. DOI: 10.22494/cot.v11i1.150

270. Голюк ЄЛ, Кабацій МС, Філіпчук ВВ, Мельник МВ, Лук’янова НЮ. Клініко-генеалогічне та епігенетичне обстеження пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2021;(2):18-24. DOI: 10.37647/0132-2486-2021-109-2-18-24

271. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ. Власний підхід до лікування юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки. Літопис травматології та ортопедії. 2011; (1-2):106-110.

272. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Аналіз результатів оперативного лікування пацієнтів з хворобою Ерлахера-Блаунта. Травма. 2014;15(3):27-9.

273. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Корекція варусної деформації гомілки при хворобі Блаунта. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2017;(2):33-39.

274. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ. Кут для оцінки та моніторингу ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу при юнацькому епіфізеолізі головки стегнової кістки. Літопис травматології та ортопедії. 2012; (1-2 (23-24)):59-61.

275. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ. Прогнозування виникнення та перебігу синдрому феморо-ацетабулярного конфлікту у пацієнтів із юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Травма. 2013;14(2). DOI: 10.22141/1608-1706.2.14.2013.88633

276. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ, Біла ІІ. Фактори ризику виникнення синдрому феморо-ацетабулярного конфлікту в дітей та підлітків при хворобі Легга-Кальве-Пертеса. Травма. 2013;14(5):100-104.

277. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Мельник МВ. Прогнозування спастичного зміщення стегнової кістки у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем. Літопис травматології та ортопедії. 2015; (1-2 (31-32)):69-74.

278. Mancinelli L, Intini G. Age-associated declining of the regeneration potential of skeletal stem/progenitor cells. Front Physiol. 2023 Feb 2;14:1087254. DOI: 10.3389/fphys.2023.1087254.

279. Ji Y, Hu C, Chen Z, Li Y, Dai J, Zhang J, Shu Q. Clinical trials of stem cell-based therapies for pediatric diseases: a comprehensive analysis of trials registered on ClinicalTrials.gov and the ICTRP portal site. Stem Cell Res Ther. 2022 Jul 15;13(1):307. DOI: 10.1186/s13287-022-02973-2.

280. Norambuena GA, Khoury M, Jorgensen C. Mesenchymal stem cells in osteoarticular pediatric diseases: an update. Pediatr Res. 2012 Apr;71(4 Pt 2):452-8. DOI: 10.1038/pr.2011.68.

281. Kleinsteuber K, Heesch K, Schattling S, Kohns M, Sander-Jülch C, Walzl G, et al. Decreased expression of miR-21, miR-26a, miR-29a, and miR-142-3p in $CD4^+$ T cells and peripheral blood from tuberculosis patients. PLoS One. 2013 Apr 16;8(4):e61609. DOI: 10.1371/journal.pone.0061609.

282. Martsynyak SM, Chornobai SP, Holyuk YeL, Bondariev GG. Modern Approach to Conservative Treatment of Degenerative Diseases of Joints Using

Regenerative Medicine Techniques. Probl Cryobiol Cryomed. 2018;28(1);79-83. DOI.org/10.15407/cryo28.01.079

283. Holiuk Ye, Pschenychny T, Ostapenko T, Yavorovska V, Magomedov O. Analysis of quality of life in patients with knee osteoarthritis after application of autologous leukocyte-rich and leukocyte-poor platelet-rich plasma. Cell and Organ Transplantology. 2020;8(2):131-138. DOI: 10.22494/cot.v8i2.112

284. Bondariev G, Strafun S, Holiuk Ye, Saulenko K, Darovskyi O, Syvak A. Functional Results Analysis of L-PRP Application for Patients with Meniscus Injures of the Knee Joint. Georgian Medical News. 2020;11(308):14-19.

285. Голюк ЄЛ, Пшениний ТЄ, Бондарєв ГГ, Сауленко КО. Досвід застосування методик пролотерапії при остеоартрозі колінного суглоба. Літопис травматології та ортопедії. 2018;(1-2(37-38)):150-153.

286. Цепколенко ВО, Пшеничний ТЄ, Голюк ЄЛ, Тимочук ВВ, Деркач РВ. Використання аутомезоконцентрату тромбоцитів у пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(1(29)). DOI: 10.26693/jmbs06.01.160

287. Bondariev G, Strafun S, Holiuk Ye, Saulenko K, Darovskyi O, Syvak A. Comparative analysis of the use of L-PRP/L-PCP injections, arthroscopic partial resection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of the meniscus tears. Cell and Organ Transplantology. 2022;10(1):4-8. DOI: 10.22494/cot.v10i1.133

288. Loo SJQ, Wong NK. Advantages and challenges of stem cell therapy for osteoarthritis (Review). Biomed Rep. 2021 Aug;15(2):67. DOI: 10.3892/br.2021.1443.

289. Thoene M, Bejer-Olenska E, Wojtkiewicz J. The current state of osteoarthritis treatment options using stem cells for regenerative therapy: A Review. Int J Mol Sci. 2023 May 18;24(10):8925. DOI: 10.3390/ijms24108925.

290. Chen Y, Cheng RJ, Wu Y, Huang D, Li Y, Liu Y. Advances in stem cell-based therapies in the treatment of osteoarthritis. Int J Mol Sci. 2023 Dec 28;25(1):394. DOI: 10.3390/ijms25010394.

291. Xiang XN, Zhu SY, He HC, Yu X, Xu Y, He CQ. Mesenchymal stromal cell-based therapy for cartilage regeneration in knee osteoarthritis. Stem Cell Res Ther. 2022 Jan 10;13(1):14. DOI: 10.1186/s13287-021-02689-9.

292. Simunec D, Salari H, Meyer J. Treatment of Grade 3 and 4 osteoarthritis with intraoperatively separated adipose tissue-derived stromal vascular fraction: A comparative case series. Cells. 2020 Sep 14;9(9):2096. DOI: 10.3390/cells9092096.

293. Freitag J, Wickham J, Shah K, Tenen A. Real-world evidence of mesenchymal stem cell therapy in knee osteoarthritis: a large prospective two-year case series. Regen Med. 2022 Jun;17(6):355-373. DOI: 10.2217/rme-2022-0002.

294. Deveza LA, Nelson AE, Loeser RF. Phenotypes of osteoarthritis: current state and future implications. Clin Exp Rheumatol. 2019 Sep-Oct;37 Suppl 120(5):64-72.

295. Calvet J, García-Manrique M, Berenguer-Llergo A, Orellana C, Cirera SG, Llop M, et al. Metabolic and inflammatory profiles define phenotypes with clinical relevance in female knee osteoarthritis patients with joint effusion. Rheumatology (Oxford). 2023 Dec 1;62(12):3875-3885. DOI: 10.1093/rheumatology/kead135.

296. Saxer F, Hollinger A, Bjurström MF, Conaghan PG, Neogi T, Schieker M, et al. Pain-phenotyping in osteoarthritis: Current concepts, evidence, and considerations towards a comprehensive framework for assessment and treatment. Osteoarthr Cartil Open. 2024 Jan 5;6(1):100433. DOI: 10.1016/j.ocarto.2023.100433.

297. Roemer FW, Jarraya M, Collins JE, Kwoh CK, Hayashi D, Hunter DJ, et al. Structural phenotypes of knee osteoarthritis: potential clinical and research relevance. Skeletal Radiol. 2023 Nov;52(11):2021-2030. DOI: 10.1007/s00256-022-04191-6.

298. Im GI, Moon JY. Emerging concepts of endotypes/phenotypes in regenerative medicine for osteoarthritis. Tissue Eng Regen Med. 2022 Apr;19(2):321-324. DOI: 10.1007/s13770-021-00397-2.

299. Kenihan L, McTier L, Phillips NM. Patients' expectations and experiences of stem cell therapy for the treatment of knee osteoarthritis. Health Expect. 2020 Oct;23(5):1300-1309. DOI: 10.1111/hex.13113.

300. Di Matteo B, Filardo G, Lo Presti M, Kon E, Marcacci M. Chronic anti-platelet therapy: a contraindication for platelet-rich plasma intra-articular injections? Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014;18(1 Suppl):55-9.

301. Голюк ЄЛ. Питання трансплантології в травматології та ортопедії: проблеми та шляхи їх вирішення. Збірник наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:239.

302. Наказ МОЗ України 20.03.2024 року № 480 «Про затвердження стандарту «Настанова. Лікарські засоби. Класифікація лікарських засобів передової терапії».

303. Настанова СТ-Н МОЗУ 42 – 9.0:2024 «Лікарські засоби. Класифікація лікарських засобів передової терапії», Київ. 2024:105 с.

304. Guillem-Llobat P, Marín M, Rouleau M, Silvestre A, Blin-Wakkach C, Ferrándiz ML, et al. New insights into the pro-inflammatory and osteoclastogenic profile of circulating monocytes in osteoarthritis patients. Int J Mol Sci. 2024 Jan 30;25(3):1710. DOI: 10.3390/ijms25031710.

305. Aging Biomarker Consortium; Bao H, Cao J, Chen M, Chen M, Chen W, et al. Biomarkers of aging. Sci China Life Sci. 2023 May;66(5):893-1066. DOI: 10.1007/s11427-023-2305-0.

306. Chung PL, Zhou S, Eslami B, Shen L, LeBoff MS, Glowacki J. Effect of age on regulation of human osteoclast differentiation. J Cell Biochem. 2014 Aug;115(8):1412-9. DOI: 10.1002/jcb.24792.

307 Li X, Li C, Zhang W, Wang Y, Qian P, Huang H. Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. Signal Transduct Target Ther. 2023 Jun 8;8(1):239. DOI: 10.1038/s41392-023-01502-8.

308. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on

immunosenescence. Ann N Y Acad Sci. 2000 Jun;908:244-54. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x.

309. Weiskopf D, Weinberger B, Grubeck-Loebenstein B. The aging of the immune system. Transpl Int. 2009 Nov;22(11):1041-50. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2009.00927.x.

310. Motta F, Barone E, Sica A, Selmi C. Inflammaging and osteoarthritis. clin rev allergy immunol. 2023 Apr;64(2):222-238. DOI: 10.1007/s12016-022-08941-1.

311. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. Ann N Y Acad Sci. 2000 Jun;908:244-54. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x.

312. Greene MA, Loeser RF. Aging-related inflammation in osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2015 Nov;23(11):1966-71. DOI: 10.1016/j.joca.2015.01.008.

313. van der Kraan PM. Inhibition of transforming growth factor-β in osteoarthritis. Discrepancy with reduced TGFβ signaling in normal joints. Osteoarthr Cartil Open. 2022 Feb 4;4(1):100238. DOI: 10.1016/j.ocarto.2022.100238.

314. Blanco J, García A, Hermida-Nogueira L, Castro AB. How to explain the beneficial effects of leukocyte- and platelet-rich fibrin. Periodontol 2000. 2025 Feb;97(1):74-94. DOI: 10.1111/prd.12570.

315. Scully D, Naseem KM, Matsakas A. Platelet biology in regenerative medicine of skeletal muscle. Acta Physiol (Oxf). 2018 Jul;223(3):e13071. DOI: 10.1111/apha.13071.

316. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. Am J Sports Med. 2009;37(11):2259-2272.

317. Tschon M, Fini M, Giardino R, Filardo G, Dallari D, Torricelli P, et al. Lights and shadows concerning platelet products for musculoskeletal regeneration. Front Biosci (Elite Ed). 2011 Jan 1;3(1):96-107. DOI: 10.2741/e224.

318. Santos MI, Reis RL. Vascularization in bone tissue engineering:physiology, current strategies, major hurdles and future chal-lenges. Macromol Biosci. 2010 Jan 11;10(1):12-27. DOI: 10.1002/mabi.200900107.

319. Brickson S, Hollander J, Corr DT, Ji LL, Best TM. Oxidant production and immune response after stretch injury in skeletal muscle. Med Sci Sports Exerc. 2001 Dec;33(12):2010-5. DOI: 10.1097/00005768-200112000-00006.

320. Toumi H, F'Guyer S, Best TM. The role of neutrophils in injury andrepair following muscle stretch. J Anat. 2006;208(4):459-470. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2006.00543.x.

321. Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound re-pair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. AmJ Pathol. 1975 Jan;78(1):71-100.

322. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. J Invest Dermatol. 2007 Mar;127(3):514-25. DOI: 10.1038/sj.jid.5700701.

323. DiPietro LA. Wound healing: the role of the macrophage and otherimmune cells. Shock. 1995;4(4):233-240.

324. Gordon J, Ley SC, Melamed MD, English LS, Hughes-Jones NC. Immortalized B lymphocytes produce B-cell growth factor. Nature.1984;310(5973):145-147.

325. Blotnick S, Peoples GE, Freeman MR, Eberlein TJ, Klagsbrun M. T lymphocytes synthesize and export heparin-binding epidermalgrowth factor-like growth factor and basic fibroblast growth fac-tor, mitogens for vascular cells and fibroblasts: differential produc-tion and release by CD4+ and CD8+ T cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1994 Apr 12;91(8):2890-94. DOI: 10.1073/pnas.91.8.2890.

326. Shim JW, Lee JS, Park YB, Cho HC, Jung HS. The effect of leuco-cyte concentration of platelet-rich plasma on outcomes in patientswith lateral epicondylitis: a systematic review and meta-analysis. JShoulder Elb Surg. 2022;31(3):634-645. DOI: 10.1016/j.jse.2021.10.036.

327. Muthu S, Patel S, Selvaraj P, Jeyaraman M. Comparative analysisof leucocyte poor vs leucocyte rich platelet-rich plasma in themanagement of lateral

epicondylitis: systematic review & meta-analysis of randomised controlled trials. J Clin Orthop Trauma. 2021 May 21;19:96-107. DOI: 10.1016/j.jcot.2021.05.020.

328. Li S, Yang G, Zhang H, Li X, Lu Y. A systematic review on the effi-cacy of different types of platelet-rich plasma in the managementof lateral epicondylitis. J Shoulder Elb Surg. 2022 Jul;31(7):1533-1544. DOI: 10.1016/j.jse.2022.02.017.

329. Riboh JC, Saltzman BM, Yanke AB, Fortier L, Cole BJ. Effectof leukocyte concentration on the efficacy of platelet-richplasma in the treatment of knee osteoarthritis. Am J Sports Med. 2016 Mar;44(3):792-800. DOI: 10.1177/0363546515580787.

330. Kim JH, Park YB, Ha CW, Roh YJ, Park JG. Adverse reactionsand clinical outcomes for leukocyte-poor versus leukocyte-rich platelet-rich plasma in knee osteoarthritis: a systematic re-view and meta-analysis. Orthop J Sports Med. 2021 Jun 30;9(6):23259671211011948. DOI: 10.1177/23259671211011948.

331. Di Martino A, Boffa A, Andriolo L, Romandini I, Altamura SA, Cenacchi A, et al. Leukocyte-rich versus leukocyte-poor platelet-rich plasma for the treatment of knee osteoarthritis: A double-blind randomized trial. Am J Sports Med. 2022 Mar;50(3):609-617. DOI: 10.1177/03635465211064303.

332. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Лущій ОМ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС. Диференційоване застосування лейкоцитарної та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба. Інформаційний бюлетень. Додаток до «Журналу Національної академії медичних наук України», Київ. 2024. Випуск 57:139.

333. Ткачук ПВ. Клітинні та тканинні технології в лікуванні остеоартрозу (експериментальне дослідження) [дисертація]. Київ: ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»; 2023. 177 с.

334. Thami T, Kumar P, Gupta A, Patel S. Orthobiologics for knee osteoarthritis: A review of current practice and future directions. J Arthrosc Surg Sports Med. 2024;5:119-4. DOI: 10.25259/JASSM_22_2024

335. Su CA, Jildeh TR, Vopat ML, Waltz RA, Millett PJ, Provencher MT, et al. Current state of platelet-rich plasma and cell-based therapies for the treatment of

osteoarthritis and tendon and ligament injuries. J Bone Joint Surg Am. 2022 Aug 3;104(15):1406-1414. DOI: 10.2106/JBJS.21.01112.

336. Filardo G, Kon E, Pereira Ruiz MT, Vaccaro F, Guitaldi R, Di Martino A, et al. Platelet-rich plasma intra-articular injections for cartilage degeneration and osteoarthritis: Single- versus double-spinning approach. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2012 Oct;20(10):2082-91. DOI: 10.1007/s00167-011-1837-x.

337. Evans CH, Ghivizzani SC, Robbins PD. Osteoarthritis gene therapy in 2022. Curr Opin Rheumatol. 2023 Jan 1;35(1):37-43. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000918.

338. Lucas D. Structural organization of the bone marrow and its role in hematopoiesis. Curr Opin Hematol. 2021 Jan;28(1):36-42. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000621.

339. Mapara M, Thomas BS, Bhat KM. Rabbit as an animal model for experimental research. Dent Res J (Isfahan). 2012 Jan;9(1):111-8. DOI: 10.4103/1735-3327.92960.

340. Lana JF, Purita J, Jeyaraman M, de Souza BF, Rodrigues BL, Huber SC, et al. Innovative approaches in knee osteoarthritis treatment: A comprehensive review of bone marrow-derived products. Biomedicines. 2024 Dec 11;12(12):2812. DOI: 10.3390/biomedicines12122812.

341. Han I, Kwon BS, Park HK, Kim KS. Differentiation potential of mesenchymal stem cells is related to their intrinsic mechanical properties. Int Neurourol J. 2017 Apr;21(Suppl 1):S24-31. DOI: 10.5213/inj.1734856.428.

342. Tan L, Liu X, Dou H, Hou Y. Characteristics and regulation of mesenchymal stem cell plasticity by the microenvironment - specific factors involved in the regulation of MSC plasticity. Genes Dis. 2020 Oct 27;9(2):296-309. DOI: 10.1016/j.gendis.2020.10.006.

343. Caplan AI. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! Stem Cells Transl Med. 2017 Jun;6(6):1445-1451. DOI: 10.1002/sctm.17-0051.

344. Hosseiniyan Khatibi SM, Kheyrolahzadeh K, Barzegari A, Rahbar Saadat Y, Zununi Vahed S. Medicinal signaling cells: A potential antimicrobial drug store. J Cell Physiol. 2020 Nov;235(11):7731-7746. DOI: 10.1002/jcp.29728.

345. Caplan AI. Medicinal signalling cells: they work, so use them. Nature. 2019 Feb;566(7742):39. DOI: 10.1038/d41586-019-00490-6.

346. Yunna C, Mengru H, Lei W, Weidong C. Macrophage M1/M2 polarization. Eur J Pharmacol. 2020 Jun 15;877:173090. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173090.

347. Chen S, Saeed AFUH, Liu Q, Jiang Q, Xu H, Xiao GG, et al. Macrophages in immunoregulation and therapeutics. Signal Transduct Target Ther. 2023 May 22;8(1):207. DOI: 10.1038/s41392-023-01452-1.

348. Abdelrazik H, Giordano E, Barbanti Brodano G, Griffoni C, De Falco E, Pelagalli A. Substantial overview on mesenchymal stem cell biological and physical properties as an opportunity in translational medicine. Int J Mol Sci. 2019 Oct 29;20(21):5386. DOI: 10.3390/ijms20215386.

349. Steens J, Klein D. HOX genes in stem cells: Maintaining cellular identity and regulation of differentiation. Front Cell Dev Biol. 2022 Sep 13;10:1002909. DOI: 10.3389/fcell.2022.1002909.

350. Lee JY, Hong SH. Hematopoietic stem cells and their roles in tissue regeneration. Int J Stem Cells. 2020 Mar 30;13(1):1-12. DOI: 10.15283/ijsc19127.

351. Zhang P, Zhang C, Li J, Han J, Liu X, Yang H. The physical microenvironment of hematopoietic stem cells and its emerging roles in engineering applications. Stem Cell Res Ther. 2019 Nov 19;10(1):327. DOI: 10.1186/s13287-019-1422-7.

352. Katz JN, Kaetlyn R, Arant BA, Loeser RF. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: A review. JAMA. 2021 Feb 9;325(6):568-78. DOI: 10.1001/jama.2020.22171.

353. Sadri B, Nouraein Sh, Hossein-Khannazer N, Mohammadi J, Vosough M. Current and novel theranostic modalities for knee osteoarthritis. Sechenov Medical Journal. 2021;12(3):17-30. DOI: 10.47093/2218-7332.2021.293.03.

354. Deveza LA, Nelson AE, Loeser RF. Phenotypes of osteoarthritis: current state and future implications. Clin Exp Rheumatol. 2019 Sep-Oct;37 Suppl 120(5):64-72.

355. Lukianova NYu, Borikun TV, Basas VM, Yalovenko TM, Zadvornyi TV, Malyshok NV, et al. Circulating miRNAs: prospects of use for early diagnosis and monitoring of the tumor process. Oncology. 2019;21(3):181-91.

356. Konarski W, Poboży T, Śliwczyński A, Kotela I, Krakowiak J, Hordowicz M, et al. Avascular Necrosis of Femoral Head-Overview and Current State of the Art. Int J Environ Res Public Health. 2022 Jun;19(12):7348. DOI: 10.3390/ijerph19127348.

357. Atlas Of Ultrasound-Guided Musculoskeletal Injections. Gerard A. Malanga Kenneth R. Mautner. McGraw-Hill Education, 2014. 455 p.

358. Lueders DR, Smith J, Sellon JL. Ultrasound-Guided Knee Procedures. Phys Med Rehabil Clin N Am. 2016 Aug;27(3):631-48. DOI: 10.1016/j.pmr.2016.04.010.

359. Rális Z, McKibbin B. Changes in shape of the human hip joint during its development and their relation to its stability. J Bone Joint Surg Br. 1973 Nov;55(4):780-5.

360. Goodman DA, Feighan JE, Smith AD, Latimer B, Buly RL, Cooperman DR. Subclinical slipped capital femoral epiphysis. Relationship to osteoarthrosis of the hip. J Bone Joint Surg Am. 1997 Oct;79(10):1489-97. DOI: 10.2106/00004623-199710000-00005.

361. Abraham E, Garst J, Barmada R. Treatment of moderate to severe slipped capital femoral epiphysis with extracapsular base-of-neck osteotomy. J Pediatr Orthop. 1993 May-Jun;13(3):294-302. DOI: 10.1097/01241398-199305000-00004.

362. Aronsson DD, Loder RT, Breur GJ, Weinstein SL. Slipped capital femoral epiphysis: current concepts. J Am Acad Orthop Surg. 2006 Nov;14(12):666-79. DOI: 10.5435/00124635-200611000-00010.

363. Hoaglund FT, Steinbach LS. Primary osteoarthritis of the hip: etiology and epidemiology. J Am Acad Orthop Surg. 2001 Sep-Oct;9(5):320-7. DOI: 10.5435/00124635-200109000-00005.

364. Loughlin J. Genetics of osteoarthritis. Curr Opin Rheumatol. 2011 Sep;23(5):479-83. DOI: 10.1097/BOR.0b013e3283493ff0.

365. Hogervorst T, Eilander W, Fikkers JT, Meulenbelt I. Hip ontogenesis: how evolution, genes, and load history shape hip morphotype and cartilotype. Clin Orthop Relat Res. 2012 Dec;470(12):3284-96. DOI: 10.1007/s11999-012-2511-4.

366. Styne DM. Pediatric Endocrinology. Baltimore: Uppincot, William&Wilkins, 2004. 372 p.

367. Kumarswamy R, Volkmann I, Thum T. Regulation and function of miRNA-21 in health and disease. RNA Biol. 2011 Sep-Oct;8(5):706-13. DOI: 10.4161/rna.8.5.16154.

368. Buscaglia LE, Li Y. Apoptosis and the target genes of microRNA-21. Chin J Cancer. 2011 Jun;30(6):371-80. DOI: 10.5732/cjc.011.10132.

369. Wang F, Zhao XQ, Liu JN, Wang ZH, Wang XL, Hou XY et al. Antagonist of microRNA-21 improves balloon injury-induced rat iliac artery remodeling by regulating proliferation and apoptosis of adventitial fibroblasts and myofibroblasts. J Cell Biochem 2012; 113: 2989–3001. DOI: 10.1002/jcb.24176

370. Loughlin J. Genetic indicators and susceptibility to osteoarthritis. Br J Sports Med. 2011 Apr;45(4):278-82. DOI: 10.1136/bjsm.2010.081059.

371. Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, Kubo T, Takatori Y, Saito S, et al. A functional polymorphism in the 5’ UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. Nat Genet 2007 Apr;39(4):529-33. DOI: 10.1038/2005.

372. Yang S, Kim J, Ryu JH, Oh H, Chun CH, Kim BJ, et al. Hypoxia-inducible factor-2alpha is a catabolic regulator of osteoarthritic cartilage destruction. Nat Med 2010 Jun;16(6):687-93. DOI: 10.1038/nm.2153.

373. Wang Q, Rozelle AL, Lepus CM, Scanzello CR, Song JJ, Larsen DM, et al. Identification of a central role for complement in osteoarthritis. Nat Med 2011 Nov 6;17(12):1674-9. DOI: 10.1038/nm.2543.

374. Deng X, Zhong Y, Gu L, Shen W, Guo J. MiR-21 involve in ERK-mediated upregulation of MMP9 in the rat hippocampus following cerebral ischemia. Brain Res Bull May;94:56-62. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2013.02.007.

375. Roy S, Khanna S, Hussain SR, Biswas S, Azad A, Rink C, et al. MicroRNA expression in response to murine myocardial infarction: miR-21 regulates fibroblast metalloprotease-2 via phosphatase and tensin homologue. Cardiovasc Res 2009 Apr 1;82(1):21-9. DOI: 10.1093/cvr/cvp015.

376. Yin W, Qi X, Zhang Y, Sheng J, Xu Z, Tao S, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte- and platelet-rich plasma in promoting repair of bone defects. J Transl Med. 2016 Mar 15;14:73. DOI: 10.1186/s12967-016-0825-9.

377. Wang SZ, Fan WM, Jia J, Ma LY, Yu JB, Wang C. Is exclusion of leukocytes from platelet-rich plasma (PRP) a better choice for early intervertebral disc regeneration? Stem Cell Res Ther. 2018 Jul 18;9(1):199. DOI: 10.1186/s13287-018-0937-7.

378. Leonidou A, Lepetsos P, Mintzas M, Kenanidis E, Macheras G, Tzetis M, Potoupnis M, Tsiridis E. Inducible nitric oxide synthase as a target for osteoarthritis treatment. Expert Opin Ther Targets. 2018 Apr;22(4):299-318. DOI: 10.1080/14728222.2018.1448062.

379. Chubinskaya S, Kuettner KE, Cole AA. Expression of matrix metalloproteinases in normal and damaged articular cartilage from human knee and ankle joints. Lab Invest. 1999 Dec;79(12):1669-77.

380. Wojdasiewicz P, Poniatowski ŁA, Szukiewicz D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. Mediators Inflamm. 2014;2014:561459. DOI: 10.1155/2014/561459.

381. Kennedy MI, Whitney K, Evans T, LaPrade RF. Platelet-Rich Plasma and cartilage repair. Curr Rev Musculoskelet Med. 2018 Dec;11(4):573-582. DOI: 10.1007/s12178-018-9516-x.

382. Xie X, Zhang C, Tuan RS. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. Arthritis Res Ther. 2014 Feb 25;16(1):204. DOI: 10.1186/ar4493.

383. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. Immunity. 2010 Nov 24;33(5):657-70. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.11.011.

384. Stark MA, Huo Y, Burcin TL, Morris MA, Olson TS, Ley K. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. Immunity. 2005 Mar;22(3):285-94. DOI: 10.1016/j.immuni.2005.01.011.

385. Fitzpatrick J, Bulsara MK, McCrory PR, Richardson MD, Zheng MH. Analysis of platelet-rich plasma extraction: Variations in platelet and blood components between 4 common commercial kits. Orthop J Sports Med. 2017 Jan 3;5(1):2325967116675272. DOI: 10.1177/2325967116675272.

386. Yoshida R, Murray MM. Peripheral blood mononuclear cells enhance the anabolic effects of platelet-rich plasma on anterior cruciate ligament fibroblasts. J Orthop Res. 2013 Jan;31(1):29-34. DOI: 10.1002/jor.22183.

387. Lana JF, Huber SC, Purita J, Tambeli CH, Santos GS, Paulus C, Annichino-Bizzacchi JM. Leukocyte-rich PRP versus leukocyte-poor PRP - The role of monocyte/macrophage function in the healing cascade. J Clin Orthop Trauma. 2019 Oct;10(Suppl 1):S7-S12. DOI: 10.1016/j.jcot.2019.05.008.

388. Caplan AI, Correa D. PDGF in bone formation and regeneration: new insights into a novel mechanism involving MSCs. J Orthop Res. 2011 Dec;29(12):1795-803. DOI: 10.1002/jor.21462.

389. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. Plast Reconstr Surg. 2004 Nov;114(6):1502-8. DOI: 10.1097/01.prs.0000138251.07040.51.

390. Meeson R, Sanghani-Keri A, Coathup M, Blunn G. VEGF with AMD3100 endogenously mobilizes mesenchymal stem cells and improves fracture healing. J Orthop Res. 2019 Jun;37(6):1294-1302. DOI: 10.1002/jor.24164.

391. Duif C, Vogel T, Topcuoglu F, Spyrou G, von Schulze Pellengahr C, Lahner M. Does intraoperative application of leukocyte-poor platelet-rich plasma during arthroscopy for knee degeneration affect postoperative pain, function and quality of life? A 12-month randomized controlled double-blind trial. Arch Orthop Trauma Surg. 2015 Jul;135(7):971-7. DOI: 10.1007/s00402-015-2227-5.

392. Filardo G, Kon E, DI Matteo B, DI Marino A, Sessa A, Merli ML, Marcacci M. Leukocyte-poor PRP application for the treatment of knee osteoarthritis. Joints. 2014 Jan 8;1(3):112-20.

393. Filardo G, Previtali D, Napoli F, Candrian C, Zaffagnini S, Grassi A. PRP injections for the treatment of knee osteoarthritis: A meta-analysis of randomized controlled trials. Cartilage. 2021 Dec;13(1_suppl):364S-375S. DOI: 10.1177/1947603520931170.

394. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, Cenacchi A, Del Vento AM, et al. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. Biomaterials. 2003 Aug;24(18):3095-100. DOI: 10.1016/s0142-9612(03)00114-5.

395 Oltulu I, Korkmaz O, Isyar M, Kara A, Bulbul AM, Mahirogulları M. Does the difference in leukocyte concentration of PRP affect the short-term follow-up results in cases diagnosed with early stage knee osteoarthritis? Experimental and Applied Biomedical Research (EABR). 2020;21(4):325-331. DOI: 10.2478/sjecr-2019-0010

396. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Лущій ОМ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС. Диференційоване застосування лейкоцитарної та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба. Інформаційний бюлетень. Журнал Національної академії медичних наук України. 2024;57:139.

397. Sochacki KR, Safran MR, Abrams GD, Donahue J, Chu C, Sherman SL. Platelet-rich plasma augmentation for isolated arthroscopic meniscal repairs leads to significantly lower failure rates: A systematic review of comparative studies. Orthop

J Sports Med. 2020 Nov 20;8(11):2325967120964534. DOI: 10.1177/2325967120964534.

398. Belk JW, Kraeutler MJ, Thon SG, Littlefield CP, Smith JH, McCarty EC. Augmentation of meniscal repair with platelet-rich plasma: A systematic review of comparative studies. Orthop J Sports Med. 2020 Jun 17;8(6):2325967120926145. DOI: 10.1177/2325967120926145.

399. Giuffrida A, Di Bari A, Falzone E, Iacono F, Kon E, Marcacci M, et al. Conservative vs. surgical approach for degenerative meniscal injuries: a systematic review of clinical evidence. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020 Mar; 24(6): 2874-2885. DOI: 10.26355/eurrev_202003_20651

400. Jindal K, Aggarwal S, Kumar P, Rathod P. Core decompression with bone marrow aspirate concentrate in post collapse avascular necrosis of hip: A systematic review and meta-analysis. J Clin Orthop Trauma. 2021 Feb 17;17:78-87. DOI: 10.1016/j.jcot.2021.02.010.

401. Li M, Chen D, Ma Y, Zheng M, Zheng Q. Stem cell therapy combined with core decompression versus core decompression alone in the treatment of avascular necrosis of the femoral head: a systematic review and meta-analysis. J Orthop Surg Res. 2023 Aug 2;18(1):560. DOI: 10.1186/s13018-023-04025-8.

402. D'Souza RS, Her YF, Hussain N, Karri J, Schatman ME, Calodney AK, et al. Evidence-Based Clinical Practice Guidelines on Regenerative Medicine Treatment for Chronic Pain: A Consensus Report from a Multispecialty Working Group. J Pain Res. 2024 Sep 11;17:2951-3001. DOI: 10.2147/JPR.S480559.

ДОДАТОК 1
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Філіпчук ВВ, Крєслов ОІ, Озєров ІО, Голюк ЄЛ. Новий опитувальник для визначення функції кульшового суглоба у дітей та підлітків. Український медичний альманах. 2011;14(2):220-223. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, інтерпретацію результатів та редагування статті*). *Фахове видання, категорія Б.*
2. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ. Власний підхід до лікування юнацького епіфізеолізу головки стегнової кістки. Літопис травматології та ортопедії. 2011;(1-2 (21-22)):106-110. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено алгоритм оцінки скелетної зрілості та проведено його інтерпретацію, редагування статті). Фахове видання, категорія Б* .
3. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ. Кут для оцінки та моніторингу ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу при юнацькому епіфізеолізі головки стегнової кістки. Літопис травматології та ортопедії. 2012;(1-2 (23-24)):59-61. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено кут для оцінки та моніторингу ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу, проведено інтерпретацію результатів, написання статті). Фахове видання, категорія Б.*
4. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ. Прогнозування виникнення та перебігу синдрому феморо-ацетабулярного конфлікту у пацієнтів із юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Травма. 2013;14(2) DOI: 10.22141/1608-1706.2.14.2013.88633 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, проведено інтерпретацію оцінки алгоритму скелетної зрілості у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом, редагування статті). Фахове видання, категорія Б.*
5. Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ, Біла ІІ. Фактори ризику виникнення синдрому феморо-ацетабулярного конфлікту в дітей та підлітків при хворобі Легга-Кальве-Пертеса. Травма. 2013;14(5):100-104. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, проведено інтерпретацію оцінки алгоритму скелетної зрілості у пацієнтів з хворобою Легга-Кальве-Пертеса, редагування статті). Фахове видання, категорія Б.*
6. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Немеш ММ. Методика визначення скелетної зрілості у дітей та підлітків за рентгенограмами колінних суглобів. Літопис травматології та ортопедії. 2014;1-2 (29-30):37-40. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено методику та алгоритм оцінки скелетної зрілості у пацієнтів дитячого та підліткового віку за рентгенограмами колінних суглобів, написання статті). Фахове видання, категорія Б.*
7. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Аналіз результатів оперативного лікування пацієнтів з хворобою Ерлахера-Блаунта. Травма. 2014;15(3):27-29. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, аналіз результатів лікування пацієнтів з хворобою Ерлахера-Блаунта залежно*

від віку та варіанту оперативного лікування, редагування статті). Фахове видання, категорія Б.

8. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Кабацій МС, Мельник МВ. Прогнозування спастичного зміщення стегнової кістки у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем. Літопис травматології та ортопедії. 2015;1-2 (31-32):69-74. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, інтерпретацію алгоритму оцінки скелетної зрілості у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем, як прогностичного фактору спастичного зміщення стегнової кістки, статистична обробка результатів, написання статті). Фахове видання, категорія Б.*

9. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Корекція варусної деформації гомілки при хворобі Блаунта. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2017;(2):33-39. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, проведено інтерпретацію оцінки алгоритму скелетної зрілості у пацієнтів з хворобою Ерлахера-Блаунта, як біомаркера рецидивів деформації, редагування статті). Фахове видання, категорія Б.*

10. Ракуха АВ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС. Вплив препаратів збагаченої та збідненої на тромбоцити плазми на метаболічний профіль моноцитів аутологічної периферичної крові людини *in vitro*. Вісник Одеського Національного університету. 2017;22(1(40):103-114. DOI 10.18524/2077-1746.2017.1(40).96527 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, набір біологічного матеріалу для дослідження, статистична обробка результатів дослідження, редагування статті). Фахове видання, категорія Б.*

11. Martsynyak SM, Chornobai SP, Holyuk YeL, Bondariev GG. Modern Approach to Conservative Treatment of Degenerative Diseases of Joints Using Regenerative Medicine Techniques. Probl Cryobiol Cryomed. 2018; 28(1):79-83. DOI: 10.15407/cryo28.01.079 (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію результатів лікування за шкалами якості життя, редагування статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q3.*

12. Голюк ЄЛ, Пшениний ТЄ, Бондарєв ГГ, Сауленко КО. Досвід застосування методик пролотерапії при остеоартрозі колінного суглоба. Літопис травматології та ортопедії. 2018;1-2 (37-38):150-153. (*Здобувачем опрацювання літературних джерел, інтерпретацію результатів лікування за шкалами якості життя, написання статті). Фахове видання, категорія Б.*

13. Гайко ГВ, Герасименко СІ, Голюк ЄЛ. Засади виготовлення алотрансплантатів за технологією локального кісткового банку. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2019;(1):68-78. (*Здобувачем розроблено опитувальник донора кісткової тканини, модифіковано методику виготовлення кісткових скаффолдів, написання статті). Фахове видання, категорія Б.*

14. Holiuk Ye, Yavorovska V, Bezdeneznykh N, Kozak T, Saulenko K. TGF-β1 level in platelet-rich plasma in patients with diseases and injuries of the

musculoskeletal system Cell and Organ Transplantology. 2019;7(2):113-116. DOI: 10.22494/cot.v7i2.104 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, набір біологічного матеріалу для дослідження, статистична обробка результатів дослідження, написання статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

15. Yavorovska V, Holiuk Ye, Magomedov O, Salmanova K, Saulenko K. The blood cells count in leukocyte and leukocyte-poor platelet-concentrated plasma in patients with musculoskeletal disorders. Cell and Organ Transplantology. 2020;8(1):13-19. DOI: 10.22494/cot.v8i1.104 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, набір біологічного матеріалу для дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, редагування статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q3.*

16. Holiuk Ye, Pschenychny T, Ostapenko T, Yavorovska V, Magomedov O. Analysis of quality of life in patients with knee osteoarthritis after application of autologous leukocyte-rich and leukocyte-poor platelet-rich plasma. Cell and Organ Transplantology. 2020;8(2):131-138. DOI: 10.22494/cot.v8i2.112 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, написання статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q3.*

17. Bondariev G, Holiuk Y, Darovskyi O, Saulenko K, Haidai O. Functional Results Analysis of L-PRP Application for Patients with Meniscus Injures of the Knee Joint. Georgian Medical News. 2020;11(308):14-19. (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, редагування статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

18. Цепколенко ВО, Пшеничний ТЄ, Голюк ЄЛ, Тимочук ВВ, Деркач РВ. Використання аутомезоконцентрату тромбоцитів у пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(1(29): 160-167. DOI: 10.26693/jmbs06.01.160 (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групі з остеоартрозом колінного суглоба та інтерпретацію результатів за шкалами якості життя, редагування статті). Фахове видання, категорія Б.*

19. Голюк ЄЛ, Кабацій МС, Філіпчук ВВ, Мельник МВ, Лук'янова НЮ. Клініко-генеалогічне та епігенетичне обстеження пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2021;(2):18-24. DOI.:10.37647/0132-2486-2021-109-2-18-24 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, набір біологічного матеріалу у пацієнтів для визначення мікроРНК, проведено аналіз залежності показників експресії мікроРНК від віку, статі та періоду статевого розвитку пацієнтів, визначено фактори ризику розвитку остеоартрозу у досліджуваних групах, написання статті). Фахове видання, категорія Б.*

20. Голюк ЄЛ, Поляченко ЮВ, Страфун СС, Гайович ІВ, Пшеничний ТЄ. Концептуальні засади застосування регенеративних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2021;(3):20-27. DOI:10.37647/0132-2486-2021-110-3-20-27 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено класифікацію та засади застосування біотехнологічних продуктів у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів, написання статті) Фахове видання, категорія Б.*

21. Bezdieniezhnykh N, Holiuk Ye, Gerasymenko S, Saulenko K, Mayko V, Lykhova O. Evaluation of in vitro biocompatibility of scaffolds for the repair of bone defects. Cell and Organ Transplantology. 2021;9(2):96-102. DOI: 10.22494/cot.v9i2.128 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, набір та обробку біологічного матеріалу для дослідження, інтерпретацію результатів дослідження, редагування статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

22. Bondariev G, Strafun S, Holiuk Ye, Saulenko K, Darovskyi O, Syvak A. Comparative analysis of the use of L-PRP/L-PCP injections, arthroscopic partial resection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of the meniscus tears. Cell and Organ Transplantology. 2022;10(1):4-8. DOI: 10.22494/cot.v10i1.133 (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, аналіз результатів дослідження, редагування статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

23. Strafun S, Holiuk Ye, Pschenychny T. Protocol for the examination and selection of potential living donors of bone tissue for the production of allografts Cell and Organ Transplantology. 2022;10(2):108-113. DOI: 10.22494/cot.v10i2.145 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено протокол відбору донорів кісткової тканини для виготовлення скаффолдів, аналіз результатів дослідження, написання статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

24. Holiuk Ye, Melnyk M, Filipchuk V, Ostapenko T, Strafun S. Skeletal maturity as a biomarker for determining indications for regenerative interventional technologies in adolescent patients with hip and knee diseases Cell and Organ Transplantology. 2023;11(1):14-24. DOI: 10.22494/cot.v11i1.150 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено алгоритм застосування скелетної зрілості, як біомаркера для встановлення показань до застосування регенеративних інтервенційних технологій у дітей та підлітків з захворюваннями кульшового та колінного суглобів, проведено аналіз результатів дослідження, написання статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

25. Страфун СС, Голюк ЄЛ. Методологія обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій. Terra Orthopaedica. 2023;(3):22-31. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено методологію обстеження пацієнтів з остеоартрозом та*

асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій, написання статті) Фахове видання, категорія Б.

26. Strafun S, Haiko O, Holiuk Ye, Klymchuk L, Maslova T. Ultrasound-guided accesses for regenerative injection therapy of the hip and knee Cell and Organ Transplantology. 2024;12(1):28-37. DOI: 10.22494/cot.v12i1.164 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено ультразвукові доступи до колінного та кульшового суглобів при застосуванні регенеративних інтервенційних технологій, написання статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

27. Holiuk Ye, Strafun S, Lushchii O, Ostapenko T, Smorzhevskyi V. Development of classification and criteria of quality and safety of autologous platelet concentrates for regenerative injection therapy in traumatology and orthopedics. Cell and Organ Transplantology. 2024;12(2):76-83. DOI: 10.22494/cot.v12i2.167 (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, проліковано переважну більшість пацієнтів у групах дослідження, розроблено класифікацію та критерії якості і безпеки аутологічних тромбоконцентратів для застосування в клінічній практиці, написання статті). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

28. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Науменко НО. Визначення скелетної зрілості кульшових суглобів дітей та підлітків у реконструктивній хірургії кульшових суглобів. Тези у збірнику наукових праць XVI з'їзду ортопедів-травматологів України, Харків. 2013:314-315. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, інтерпретацію алгоритму оцінки скелетної зрілості, написання тез)*

29. Кабацій МС, Філіпчук ВВ, Голюк ЄЛ, Мельник МВ, Немеш ММ. Малоінвазивні оперативні втручання в ранніх стадіях хвороби Блаунта. Тези у збірнику наукових праць XVI з'їзду ортопедів-травматологів України, Харків. 2013:327-328. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, аналіз результатів лікування пацієнтів з хворобою Ерлахера-Блаунта залежно від віку та варіанту оперативного лікування, редагування тез).*

30. Голюк ЄЛ. Регенеративні технології в травматології та ортопедії: можливості та перспективи. Тези доповіді міжнародної конференції «Актуальні питання сучасної пластичної хірургії, естетичної медицини та дерматології», Одеса. 2015:29. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено методологічні засади застосування регенеративних технологій в травматології та ортопедії, написання тез).*

31. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ. Застосування регенеративних технологій в травматології та ортопедії. Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні питання розвитку медичних наук 2 XXI ст.», Львів. 2015:45-47. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено показання та протипоказання до застосування регенеративних технологій в травматології та ортопедії, написання тез).*

32. Goliuk I, Filipchuk V, Kabatsii M, Melnyk M. Czinniki ryzyka spastycznego przemieszczenie uda u pacjentow z mozgowym porazeniem dziciecym. Tezy XXV Sympozium Sekcji Ortopedii Dzeciecei Polskiego Towarzystwa Ortopedycznego I Traumatologicznego, Zakopane. 2015:4. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, інтерпретацію алгоритму оцінки скелетної зрілості у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем, як прогностичного фактору спастичного зміщення стегнової кістки, статистична обробка результатів, написання тез).*

33. Holiuk Y, Filipchuk V. The role of epiphyseal remodeling for treatment of epiphyseolisys capitis femoris. Abstracts from 12-th Congress of the European Hip Society, Munich. 2016. Hip Int. 2016 Sep 6:26 S.75-76. DOI: 10.5301/hipint.5000450. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено кут ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу, проведено інтерпретацію алгоритму оцінки скелетної зрілості, як прогностичного фактору ремоделяції епіфізарно-метафізарного переходу у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки, статистична обробка результатів, написання тез). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q2.*

34. Holiuk Y, Filipchuk V, Kabatsii. Prophylactic pinning in epiphyseolisys capitis femoris. Abstracts from 12-th Congress of the European Hip Society, Munich. 2016. Hip Int. 2016 Sep 6:26 S.75. DOI: 10.5301/hipint.5000450. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, проведено інтерпретацію алгоритму оцінки скелетної зрілості, як прогностичного фактору зміщення головки стегнової кістки у пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки, статистична обробка результатів, написання тез). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q2.*

35. Holiuk Y, Filipchuk V, Kabatsii M, Melnyk M. Risk factors of hip luxation in cerebral palsy. Abstract book from 37-th SICOT Orthopedic World Congress, Rome. 2016:44449. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, інтерпретацію алгоритму оцінки скелетної зрілості у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем, як прогностичного фактору спастичного зміщення стегнової кістки, статистична обробка результатів, написання тез).*

36. Rakukha A, Holiuk Y, Pshenychnyi T, Maslova T. The effect of L-PRP and PPP on metabolic polarization of human monocytes in vitro. Abstracts from 2-nd International scientific conference “Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21-st century”, Kyiv, 2016: 141-142. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, набір біологічного матеріалу для дослідження, статистична обробка результатів дослідження, редагування тез).*

37. Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ., Кабацій МС. Мельник МВ. Прогнозування спастичного зміщення стегна у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:127. *(Здобувачем проведено опрацювання*

літературних джерел, інтерпретацію алгоритму оцінки скелетної зрілості у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем, як прогностичного фактору спастичного зміщення стегнової кістки, статистична обробка результатів, написання тез).

38. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Немеш ММ. Фактори ризику рецидиву варусної деформації гомілки при хворобі Блаунта. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:142. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, проведено інтерпретацію оцінки скелетної зрілості, як біомаркера рецидивів деформації гомілки при хворобі Ерлахера-Блаунта, редагування тез).*

39. Голюк ЄЛ. Питання трансплантології в травматології та ортопедії: проблеми та шляхи їх вирішення. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:239. *(Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, розроблено класифікацію біотехнологічних продуктів для застосування в травматології та ортопедії, написання тез).*

40. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Ліненко ОМ. Досвід застосування методик пролотерапії при патології опорно-рухового апарату. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology, 2017; 5(2):220. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, написання тез). Фахове видання, категорія Б.*

41. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Бондарєв ГГ. Застосування регенеративних ін’єкційних технік у пацієнтів ортопедо-травматологічного профілю. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology, 2017; 5(2):221. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, написання тез). Фахове видання, категорія Б.*

42. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ. Наш досвід застосування цитокін-терапії при лікуванні хронічного синовіїту колінних суглобів, викликаного сталим фізичним навантаженням. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology, 2017; 5(2):225. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 (*Здобувачем проведено інтерпретацію результатів лікування переважної більшості пацієнтів, редагування тез). Фахове видання, категорія Б.*

43. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Бондарєв ГГ. Виробництво алогенних кісткових скаффолдів за технологією локального (госпітального) кісткового банку. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology, 2017; 5(2):229. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 (*Здобувачем розроблено опитувальник донора кісткової тканини, модифіковано методику*

виготовлення кісткових скаффолдів, написання тез). Фахове видання, категорія Б.

44. Голюк ЄЛ., Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ., Сауленко КО. Досвід використання збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:41-45. (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, написання тез).*

45. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО. Чорнобай СП. PRP-терапія в комбінації з низькомолекулярною гіалуроновою кислотою в лікуванні неускладнених розривів менісків. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:11-12. (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, написання тез).*

46. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО, Бондарєв ГГ. Сучасні аспекти функціонування кісткових банків в Україні. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:45-46. (*Здобувачем розроблено опитувальник донора кісткової тканини, модифіковано методику виготовлення кісткових скаффолдів, написання тез).*

47. Марциняк СМ, Чорнобай СП, Голюк ЄЛ, Бондарєв ГГ. Наш досвід консервативного лікування дегенеративних захворювань суглобів із застосуванням технологій регенеративної медицини. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:99-103. (*Здобувачем проведено лікування частини пацієнтів у групах дослідження, редагування тез).*

48. Holiuk Ye, Pschenychny T, Lyhodiy V. Platelet rich plasma for treatment of the knee meniscal lesions. Proceedings of the first Imternational Conference of European Academy of Science, Bonn. 2018:36-37. (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, написання тез).*

49. Голюк ЄЛ, Магомедов СМ, Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ. Біоетичні аспекти роботи з живими донорами. Тези доповіді у матеріалах 7-го Національного конгресу з біоетики, Київ. 2019:69-70. (*Здобувачем розроблено протокол та біоетичні аспекти роботи з живими донорами кісткової тканини, написання тез).*

50. Голюк ЄЛ, Яворовська ВІ, Сауленко КО. Дослідження регенераторних ефектів збагаченої тромбоцитами плазми in vitro. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:158-159. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних*

джерел, набір біологічного матеріалу для дослідження, статистична обробка результатів дослідження, написання тез).

51. Чорнобай СП, Марциняк СМ, Голюк ЄЛ, Бондарєв ГГ. Застосування різних видів регенеративних технологій у високоспеціалізованій амбулаторній допомозі. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:163. (*Здобувачем проведено лікування частини пацієнтів у групах дослідження, редагування тез).*

52. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО, Бондарєв ГГ. Збагачена тромбоцитами плазма в лікуванні пацієнтів з остеоартрозом колінних суглобів. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:163-164. (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, написання тез).*

53. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО, Марциняк СМ, Чорнобай СП. Лікування розривів менісків за допомогою регенеративних ін'єкційних технік. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:164. (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, редагування тез).*

54. Чорнобай СП, Марциняк СМ, Голюк ЄЛ, Бондарєв ГГ. Перший досвід використання регенеративних технологій у лікуванні застарілих пошкоджень плечового суглоба. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:166-167. (*Здобувачем проведено лікування частини пацієнтів у групах дослідження, редагування тез).*

55. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ, Сауленко КО. Регенеративна ін'єкційна терапія в травматології та ортопедії. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:167. (*Здобувачем розроблено концептуальні та методологічні засади застосування регенеративної ін'єкційної терапії в травматології та ортопедії, розроблено класифікацію маломаніпульованих біотехнологічних продуктів з прериферичної крові, кісткового мозку та жирової тканини для регенеративної ін'єкційної терапії, написання тез).*

56. Кабацій МС, Голюк ЄЛ, Філіпчук ВВ, Мельник МВ, Лук’янова НЮ. Клініко-генеалогічне та епігенетичне обстеження пацієнтів з юнацьким епіфізеолізом головки стегнової кістки. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:215. (*Здобувачем проведено опрацювання літературних джерел, набір біологічного матеріалу у пацієнтів для визначення мікроРНК, проведено аналіз залежності показників експресії мікроРНК від віку, статі та періоду статевого розвитку пацієнтів, визначено фактори ризику розвитку остеоартрозу у досліджуваних групах, написання тез).*

57. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Тимочук ВВ. Перший досвід використання аллопластики у лікуванні хибних суглобів довгих кісток нижніх кінцівок. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:320. (*Здобувачем розроблено методологію виготовлення скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку, проведено інтерпретацію результатів дослідження, редагування тез).*

58. Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Бондарєв ГГ. Використання PRP та її похідних у пацієнтів з гонартрозом. Тези доповіді в матеріалах III-го зї'зду Всеукраїнської асоціації травматології та остеосинтезу, Київ. 2020:14. (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, редагування тез).*

59. Бондарєв ГГ, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Сауленко КО. Лікування розривів менісків за допомогою клітинної терапії. Тези доповіді в матеріалах III-го з'їзду Всеукраїнської асоціації травматології та остеосинтезу, Київ. 2020:30 (*Здобувачем проведено лікування переважної більшості пацієнтів у групах дослідження, інтерпретацію та статистичну обробку результатів дослідження, редагування тез).*

60. Lushchii OM, Holiuk YL. Our experience in the use of autologous platelet concentrates in traumatology and orthopedics. The materials of the XVIII Ukrainian Conference of Young Scientists of IMBG of NAS of Ukraine, Kyiv. 2024. Biopolymers and Cell, 2024. Vol. 40. N 2:161. DOI.org/10.7124/bc.000AB8. (*Здобувачем розроблено класифікацію та критерії якості і безпеки маломаніпульованих біотехнологічних продуктів з прериферичної крові, розроблено новий біотехнологічний продукт- дозований аутологічний концентрат тромбоцитів, редагування тез). Фахове видання, категорія А, індексація в Scopus, квартиль Q4.*

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

61. Голюк ЄЛ. Технологія локального кісткового банку тепер доступна в Україні. Альманах, 2018. №1:48-56 (*Здобувачем розроблено методологію виготовлення скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку, написання статті).*

62. Габрієлян АВ, Голюк ЄЛ, Домбровський ДБ, Кирик ВМ, Медведєв ВВ, Руденко СА, Шаблій ВА. Новітні методи застосування стовбурових клітин і біоінженерних технологій у регенеративній медицині. Реф. роботи, удостоєної Національної премії ім. Бориса Патона, Київ, 2021 р. https://www.kdpu-nt.gov.ua/uk/content/novitni-metody-zastosuvannya-stovburovyh-klityn-i-bioinzhenernyh-tehnologiy-u-regeneratyvniy. (*Здобувачем розроблено протокол виготовлення скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку, проведено інтерпретацію, аналіз та статистичну обробку результатів лікування пацієнтів ортопедо-травматологічного профілю за допомогою регенеративних інтервенційних технологій, оформлення фрагменту роботи).*

63. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Пшеничний ТЄ, Таранюк ОВ, Бондарєв ГГ, Маслова ТС. Виготовлення алогенних кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку (методичні рекомендації), Київ. 2023:28 с. (*Здобувачем розроблено методологію вибору донорів та виготовлення скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку, написання методичних рекомендацій).*

64. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА, Бездєнєжних НО. Спосіб приготування кісткового матриксу: пат. 115102 Україна. №u201606126; заявл. 06.06.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

65. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА, Бездєнєжних НО. Спосіб приготування кісткового матриксу: пат. 115103 Україна. №u201606127; заявл. 06.06.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

66. Голюк ЄЛ, Остапенко ТА., Бездєнєжних НО. Спосіб приготування кісткового матриксу: пат. 115104 Україна. №u201606128; заявл. 06.06.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

67. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат. 115167 Україна. №u201606190; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

68. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат 115168 Україна. №u201606191; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

69. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат 115169 Україна. №u201606192; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

70. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат. 115170 Україна. №u201606193; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

71. Герасименко СІ, Голюк ЄЛ, Герасименко АС, Маслова ТС, Пшеничний ТЄ, Ракуха ГВ. Спосіб застосування кісткового матриксу: пат. 115171 Україна. №u201606194; заявл. 02.09.2016; опубл. 10.04.2017, бюл. № 7. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

72. Кабацій МС, Голюк ЄЛ Філіпчук ВВ, Мельник МВ. Спосіб визначення періоду скелетної зрілості у дітей та підлітків: пат. 137774 Україна. №u201903309; заявл. 02.04.2019; опубл. 11.11.2019, бюл. № 21. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

73. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Сауленко КО, Магомедов СМ, Лущій ОМ, Пшеничний ТЄ, Маслова ТС, Поліщук ЛВ, Бездєнєжних НО, Лихова ОО.

Спосіб приготування дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини: пат. 152869 Україна. №u202203813; заявл. 13.10.2022; опубл. 19.04.2023, бюл. № 16. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

74. Страфун СС, Голюк ЄЛ, Маслова ТС, Мельник МВ, Пшеничний ТЄ. Навігатор для проведення троакара при тунелізації проксимального відділу стегнової кістки: пат. 155438 Україна. №u2023 03958; заявл. 18.08.2023; опубл. 28.02.2024, бюл. № 9. *(Здобувачем розроблено модель, оформлено заявку на патент).*

ДОДАТОК 2
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Голюк Є.Л. Регенеративні технології в травматології та ортопедії: можливості та перспективи. Тези доповіді міжнародної конференції «Актуальні питання сучасної пластичної хірургії, естетичної медицини та дерматології», Одеса. 2015:29. *(Усна доповідь, публікація тез).*

2. Goliuk I., Filipchuk V., Kabatsii M,, Melnyk M. Czinniki ryzyka spastycznego przemieszczenie uda u pacjentow z mozgowym porazeniem dziciecym. Tezy XXV Sympozium Sekcji Ortopedii Dzeciecei Polskiego Towarzystwa Ortopedycznego I Traumatologicznego, Zakopane. 2015:4. *(Усна доповідь, публікація тез).*

3. Goliuk I. Prognostic Indicators of Hip Luxation in Cerebral Palsy. The 2-nd MEPOS Annual Meeting, Dubai, UAE 2015. *(Усна доповідь).*

4. Holiuk Y., Filipchuk V. The role of epiphyseal remodeling for treatment of epiphyseolisys capitis femoris. Abstracts from 12-th Congress of the European Hip Society, Munich. 2016. Hip Int. 2016 Sep 6:26 S.75-76. DOI: 10.5301/hipint.5000450. *(Стендова доповідь, публікація тез).*

5. Holiuk Y., Filipchuk V., Kabatsii. Prophylactic pinning in epiphyseolisys capitis femoris. Abstracts from 12-th Congress of the European Hip Society, Munich. 2016. Hip Int. 2016 Sep 6:26 S.75. DOI: 10.5301/hipint.5000450. *(Стендова доповідь, публікація тез).*

6. Holiuk Y., Filipchuk V., Kabatsii M,, Melnyk M. Risk factors of hip luxation in cerebral palsy. Abstract book from 37-th SICOT Orthopedic World Congress, Rome. 2016:44449. *(Усна доповідь, публікація тез).*

7. Голюк Є.Л., Філіпчук В.В., Кабацій М.С. Мельник М.В. Прогнозування спастичного зміщення стегна у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:127. *(Усна доповідь, публікація тез).*

8. Голюк Є.Л. Питання трансплантології в травматології та ортопедії: проблеми та шляхи їх вирішення. Тези у збірнику наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України, Київ. 2016:239. *(Усна доповідь, публікація тез).*

9. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С., Бондарєв Г.Г. Застосування регенеративних ін’єкційних технік у пацієнтів ортопедо-травматологічного профілю. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology, 2017; 5(2):221. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 *(Усна доповідь, публікація тез).*

10. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С., Бондарєв Г.Г. Виробництво алогенних кісткових скаффолдів за технологією локального (госпітального) кісткового банку. Тези доповіді науково-практичної конференції «Інноваційні напрями в генетичній та регенеративній медицині», Київ. 2017. Cell Organ Transplantology, 2017; 5(2):229. DOI: 10.22494/cot.v5i2.79 *(Усна доповідь, публікація тез)*.

11. Holiuk Y., Pshenychnyi T., Maslova T., Rakukha A. Metabolic monocytes profile after processing with autologous plasma products. Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine, Lublin. 2017. *(Стендова доповідь).*

12. Holiuk Y., Pshenychnyi T., Maslova T., Rakukha A. Our experience of prolotherapy in patients with musculoskeletal disorders. Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine, Lublin. 2017. *(Стендова доповідь).*

13. Голюк Є.Л., Філіпчук В.В., Кабацій М.С. Мельник М.В. Фактори ризику спастичного зміщення стегна у пацієнтів з дитячим церебральним паралічем. Тези доповіді науково-практичної конференції «Актуальні питання реабілітації хворих з патологією опорно-рухової системи», Одеса. 2017. Медична реабілітація, курортологія, фізіотерапія, 2017, №1-2 (89-90):27-28. *(Усна доповідь, публікація тез)*.

14. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С., Ракуха А.В. Вивчення впливу PRP та PPP на поляризацію моноцитів периферичної крові людини in vitro. Міжнародна конференція «Регенеративні технології в сучасній медицині», Одеса. 2017. *(Усна доповідь)*.

15. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С. Методика пролотерапії в травматології та ортопедії. Міжнародна конференція «Регенеративні технології в сучасній медицині», Одеса. 2017. *(Усна доповідь)*.

16. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С. Застосування методик пролотерапії в травматології та ортопедії. IX Міжнародний медичний форум «Інновації в медицині – здоров'я нації», Київ. 2017. *(Усна доповідь)*.

17. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є, Сауленко К.О., Бондарєв Г.Г. Сучасні аспекти функціонування кісткових банків в Україні. Тези доповіді в збірнику матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю «Нові технології в ортопедії та травматології», Одеса. 2018:42-43. *(Усна доповідь, публікація тез)*.

18. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є, Сауленко К.О., Бондарєв Г.Г. Сучасні принципи діяльності кісткових банків в Україні. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання трансплантації оранів та тканин», Запоріжжя. 2018. *(Усна доповідь)*.

19. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є, Бондарєв Г.Г., Сауленко К.О. Засади функціонування кісткового банку в умовах ДУ «ІТО НАМНУ». Вчена рада ДУ «ІТО НАМН України», Київ. 2018. *(Усна доповідь)*.

20. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є, Бондарєв Г.Г., Сауленко К.О. Регенеративні інєкційні техніки в травматології та ортопедії – інноваційна альтернатива хірургії. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання трансплантації органів та тканин», Запоріжжя. 2018. *(Усна доповідь)*.

21. Голюк Є.Л., Магомедов С.М, Пшеничний Т.Є., Бондарєв Г.Г. Біоетичні аспекти роботи з живими донорами. Тези доповіді у матеріалах 7-го Національного конгресу з біоетики, Київ. 2019:69-70. *(Стендова доповідь, публікація тез)*.

22. Голюк Є.Л., Яворовська В.І., Сауленко К.О. Дослідження регенераторних ефектів збагаченої тромбоцитами плазми in vitro. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:158-159. *(Стендова доповідь, публікація тез)*.

23. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є, Бондарєв Г.Г., Сауленко К.О. Регенеративна ін'єкційна терапія в травматології та ортопедії. Тези доповіді у збірнику наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України, Івано-Франківськ. 2019:167. *(Усна доповідь, публікація тез)*.

24. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Бондарєв Г.Г. Регенеративна інєкційна терапія в травматології та ортопедії. Вчена рада ДУ «ІТО НАМН України», Київ. 2019. *(Усна доповідь)*.

25. Holiuk Y. Regenerative technologies in traumatology and orthopedics. Доповідь в рамках офіційного візиту делегації НАМН України в КНР, Шеньчжень. 2019. *(Усна доповідь).*

26. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Бондарєв Г.Г. Використання PRP та її похідних у пацієнтів з гонартрозом. Тези доповіді в матеріалах ІІІ-го зї'зду Всеукраїнської асоціації травматології та остеосинтезу, Київ. 2020:24. *(Стендова доповідь, публікація тез)*.

27. Голюк Є.Л., Бондарєв Г.Г., Пшеничний Т.Є., Сауленко К.О. Лікування розривів менісків за допомогою клітинної терапії. Тези доповіді в матеріалах ІІІ-го з'їзду Всеукраїнської асоціації травматології та остеосинтезу, Київ. 2020:24 (*Усна доповідь, публікація тез).*

28. Голюк Є.Л. Концептуальні засади застосування регенеративних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. VIII Національний конгрес ревматологів України, Київ. 2021. *(Усна доповідь).*

29. Страфун С.С., Голюк Є.Л. Концепція застосування регенеративних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Регенеративні технології в травматології та ортопедії», Київ. 2021. *(Усна доповідь).*

30. Голюк Є.Л., Поляченко Ю.В., Страфун С.С., Гайович І.В., Пшеничний Т.Є. Концепція застосування регенеративних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Міжнародний симпозіум «Сучасні технології медичного матеріалознавства і ортобіології», Київ. 2022. *(Усна доповідь).*

31. Голюк Є.Л., Бездєнєжних Н.О., Пшеничний Т.Є., Сауленко К.О., Лихова О.О. Регенеративні ефекти збагаченої тромбоцитами плазми та її похідних. Вчена рада ДУ «ІТО НАМН України», Київ. 2022. *(Усна доповідь).*

32. Голюк Є.Л., Бездєнєжних Н.О., Пшеничний Т.Є., Сауленко К.О., Лихова О.О. Регенеративні ефекти збагаченої тромбоцитами плазми та її похідних. Наукові читання імені проф. Т.Є. Скляренка «Впровадження наукових розробок в практику охорони здоров'я», Київ. 2022. *(Стендова доповідь).*

33. Голюк Є.Л. Регенеративна ін'єкційна терапія при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Науково-практична конференція «Сучасні регенеративні технології в лікуванні травм та захворювань опорно-рухового апарату», м. Київ. 2023. *(Усна доповідь).*

34. Голюк Є.Л., Пшеничний Т.Є., Сауленко К.О. Виготовлення кісткових скаффолдів для заміщення кісткових дефектів в умовах окремого госпіталя. Міжнародний симпозіум «Сучасні технології медичного матеріалознавства і ортобіології», Київ. 2023. *(Усна доповідь).*

35. Голюк Є.Л. Регенеративні технології в травматології та ортопедії. Перша фахова школа з регенеративної ортопедії, Східниця. 2023. *(Усна доповідь).*

36. Голюк Є.Л. Регенеративна ін'єкційна терапія при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Перша фахова школа з регенеративної ортопедії, Східниця. 2023. *(Усна доповідь).*

37. Страфун С.С., Голюк Є.Л. Розробити та експериментально дослідити регенеративні технології при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Вчена рада ДУ «ІТО НАМН України», Київ. 2024. *(Усна доповідь).*

ДОДАТОК 3
ПЕРЕЛІК НОВОВВЕДЕНЬ, ТЕХНОЛОГІЙ

1. Страфун С.С., Голюк Є.Л., Сауленко К.О., Магомедов С.М., Лущій О.М., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С., Поліщук Л.В., Бездєнєжних Н.О, Лихова О.О. Спосіб приготування дозованого аутологічного концентрату (ДАК) тромбоцитів людини. Інформаційний бюлетень. Додаток до «Журналу Національної академії медичних наук України», Київ. 2023. Випуск 55:124-125.

2. Страфун С.С., Голюк Є.Л., Лущій О.М., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С. Диференційоване застосування лейкоцитарної та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба. Інформаційний бюлетень. Додаток до «Журналу Національної академії медичних наук України», Київ. 2024. Випуск 57:139.

3. Біотехнологічний продукт для субхондрального внутрішньокісткового введення. Реєстраційна картка технології: Державний реєстраційний номер 0624U000101. № Держреєстрації НДДКР 0122U000200.

4. Спосіб лікування остеоартрозу та асептичного некрозу суглобів. Реєстраційна картка технології: Державний реєстраційний номер 0624U000108. № Держреєстрації НДДКР 0122U000200.

Затверджено
Генеральний директор
КНП «Дрогобицька міська лікарня №1» ДМР
Андрій КОЦЮБА

Спосіб приготування дозованого аутологічного концентрату (ДАК) тромбоцитів людини

Установа-розробник, її адреса, ПІБ авторів: ДУ «ІТО НАМН України», МСП 01601, м. Київ, вул.. Бульварно-Кудрявська, 27, Страфун С.С., Голюк Є.Л., Сауленко К.О., Магомедов С.М., Лущій О.М., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С., Поліщук Л.В., Бездєнєжних Н.О., Лихова О.О.

Джерело інформації: Інформаційний бюлетень НАМН України, К., 2023, Випуск 55- С. 124-125

Строк впровадження:02.01.2023-31.10.2024

Загальна кількість спостережень: 183

Ефективність впровадження: під нашим спостереженням знаходилося 183 пацієнти, яким проводилося лікування остеоартрозу кульшового та колінного суглобів за допомогою дозованого аутологічного концентрату тромбоцитів людини. За результатами клінічного спостереження та за даними інструментальних методів дослідження встановлено покращення стану в усіх пацієнтів. Застосування розробленої технології дозволило покращити якість життя пацієнтів з 10-3 стадією остеоартрозу кульшового та колінного суглобів на 60—80%.

Досвід застосування ДАК при остеоартрозі кульшового та колінного суглобів 1-3 стадії свідчить про його високу ефективність та можливість застосування у ортопедо-травматологічних відділеннях ЗОЗ України.

Зауваження та пропозиції: рекомендується для впровадження в ортопедо-травматологічних відділеннях обласних, міських та районних лікарень.

Дата "01" 11 2024 рік

Затверджено
Генеральний директор
КНП «Дрогобицька міська лікарня №1» ДМР
Андрій КОЦЮБА

Диференційоване застосування лейкоцитарної та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба

Установа-розробник, її адреса, ПІБ авторів: ДУ «ІТО НАМН України», МСП 01601, м. Київ, вул.. Бульварно-Кудрявська, 27, Страфун С.С., Голюк Є.Л., Лущій О.М., Пшеничний Т.Є., Маслова Т.С.

Джерело інформації: Інформаційний бюлетень НАМН України, К., 2024, Випуск 57- С. 139.

Строк впровадження:01.12.2023-31.10.2024

Загальна кількість спостережень: 56

Ефективність впровадження: під нашим спостереженням знаходилося 56 пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба 1-3 ст., яким проводилося лікування за допомогою лейкоцитарної та малолекоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми. За результатами клінічного спостереження та за даними інструментальних методів дослідження встановлено покращення стану в пацієнтів. Застосування розробленої технології дозволило покращити якість життя пацієнтів з 1-3 стадією остеоартрозу колінного суглоба на 60% при 1-й стадії, на 70% - при 2-й стадії, та на 80-90 %- при 3-й стадії.

Досвід застосування лейкоцитарної та малолейкоцитарної збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів з остеоартрозом колінного суглоба свідчить про високу ефективність цих продуктів та можливість застосування у ортопедо-травматологічних відділеннях ЗОЗ України.

Зауваження та пропозиції: рекомендується для впровадження в ортопедо-травматологічних відділеннях обласних, міських та районних лікарень.

Дата "01" 11 2024 рік

ДОДАТОК 4

УКРАЇНОМОВНІ ВЕРСІЇ ОПИТУВАЛЬНИКІВ ДЛЯ ОЦІНКИ ЯКОСТІ ЖИТТЯ ПАЦІЄНТІВ З ЗАХВОРЮВАННЯМИ КОЛІННОГО ТА КУЛЬШОВОГО СУГЛОБІВ

Колінний суглоб

Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) (шкала оцінки ушкоджень колінного суглоба та остеоартрозу).

Симптоми. На запитання слід відповідати в контексті симптомів протягом останнього тижня

C1. Чи набряк в суглобі				
○ Ніколи	○ Рід о	○ Іноді	○ Часто	○ Завжди

C2. Чи відчуваєте Ви скрежет, клацання чи будь-який інший звук при рухах в колінному суглобі?				
○ Ніколи	○ Рідко	○ Іноді	○ Часто	○ Завжди

C3. Ваше коліно заклинює чи розбовтане при рухах				
○ Ніколи	○ Рідко	○ Іноді	○ Часто	○ Завжди

C4. Чи можете Ви повністю випрямити коліно?				
○ Завжди	○ Часто	○ Іноді	○ Рідко	○ Ніколи

C5. Чи можете ви повністю зігнути коліно?				
○ Завжди	○ Часто	○ Іноді	○ Рідко	○ Ніколи

Скованість. Наступні питання стосуються ступеню скованості суглоба протягом останнього тижня. Скованість — це відчуття обмеження чи сповільнення рухів в колінному суглобі.

C6. Наскільки виражена скованість в колінному суглобі після сну?				
○ Немає	○ Незначна	○ Помірна	○ Виражена	○ Значн

C7. Наскільки виражена скованість в колінному суглобі після сидіння, лежання чи відпочинку та в кінці дня?				
○ Немає	○ Незначна	○ Помірна	○ Виражена	○ Значна

Біль

P1. Як часто ви відчуваєте біль в коліні?				
○ Ніколи	○ Щомісяця	○ Щотижня	○ Кожного дня	○ Постійно

Який біль в коліні ви відчували на минулому тижні під час наступних занять?

P2. Скручування/поворот на коліні				
○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P3. Повне розгинання коліна				
○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P4. Повне згинання коліна				
○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P5. Хода по рівній пов рхні				
○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P6. Підніматися або спускатися по сходам				
○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P7. Вночі

Ніколи	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

P8. Сидячи бо лежачи

Ніколи	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

Функція, повсякденне життя. Наступні питання стосуються функції суглоба. Під цим ми маємо на увазі вашу здатнісь пересуватися та здатність до самообслуговування. Для кожної з наступних дій, будь-ласка, вкажіть ступінь складності, яку ви відчували на минулому тижні через ваше коліно.

A1. Спуск по схода

Не складн	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A2. Восхождение п лестнице

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A3. Вставати з місця

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A4. Стояти

Не складно	Незначно	П мірно	Тяжко	Неможливо

A5. Нахилитися та підняти предмет

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A6. Хода по рівній поверхні

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A7. Сідати/виходити з машини

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A8. Йти за покупками

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A9. Надягати шкарпетки/панчохи

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A10. Підніматися з ліжка

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A11. Знімати носки/панчохи

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A12. Лежачи в ліжку (перевертатися, зберігати положення колін)

Н складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A13. Заходити/виходити з в нної (душової кабіни)

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A14. Сидіти

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A15. Підні атися/сідати в ту леті

Не складно	Незначно	Помірно	Тяжко	Неможливо

A16. Тяжкі побутові навантаження (переносити тяжкі предмети, мити підлогу тощо)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A17. Легкі побутові навантаження (приготування їжі, протирання пилюки тощо.)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможли о

Функціональні, спортивні та розважальні заходи Наступні питання стосуються вашої фізичної функції, яка потребує значних зусиль. На питання варто відповідати, в контексті складностей, що пов'язані з колінним суглобом протягом останнього місяця.

СП1. Навприсядки

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП2. Біг

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП3. Стрибки

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП4. Скручування/поворот на травмованому коліні

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП5. На колінах

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	● Неможливо

Якість життя

Q1. Як часто ви відчуваєте проблему з коліном?

○ Не відчуваю	○ Щомісяця	○ Щотижня	○ Кожного дня	○ Постійно

Q2. Чи змінили ви свій спосіб життя, щоб уникнути потенційно небезпечних дій для вашого коліна?

○ Ні	○ Дещо	○ Помірно	○ Значно	○ Повністю

Q3. Наскільки вас турбує невпевненість у вашому коліні?

○ Не турбує	○ Дещо	○ Помірно	○ Значно	○ Дуже сильно

Q4. Наскільки складна ситуація з вашим коліном в цілому?

○ Не складна	○ Незначно	○ Помірно	○ Складна	○ Дуже складна

Oxford Knee Score (Оксфордська шкала оцінки колінного суглоба).

1. Як би ви описали біль в коліні?

- ○ Відсутній
- ○ Дискомфорт
- ○ Незначний
- ○ Помірний
- ○ Сильний

2. Чи були у вас проблеми з миттям та витиранням тіла, пов'язані з вашим коліном?

- ○ Не було взагалі

7. Чи могли б ви стати на коліна, а потім знову піднятися?

- ○ Так, легко
- ○ З незначними складнощам
- ○ З помірними складнощами
- ○ Зі значними складнощами
- ○ Це неможливо зробити

8. Чи турбує біль в коліні вночі?

- ○ Ні

○ Незначні	○ Одноразово
○ Помірні	○ Кілька разів
○ Значні	○ Переважно так
○ Це неможливо зробити	○ Постійно

3. Чи були у вас проблеми з посадкою або висадкою з авто чи громадського транспорту через ваше коліно (з опорою чи без)	**9. Наскільки біль в коліні заважала вашій звичайній роботі? (в тому числі домашній)**
○ Ні, жодного разу	○ Не заважала
○ Іноді, кілька разів	○ Іноді, кілька разів
○ Періодично	○ Періодично
○ Так, постійно	○ Так, постійно
○ Це неможливо зробити	○ Це неможливо зробити
4. Як довго ви можете ходити, доки біль в коліні не стане сильним? (з опорою чи без)	**10. Чи відчували ви невпевненість через ваше коліно?**
○ > 60 хв	○ Ніколи
○ 16 - 60 хв	○ Іноді
○ 5 - 15 хв	○ Часто
○ Тільки біля дому	○ Більшу частину часу
○ Це неможливо	○ Постійно
5. Наскільки боляче вам підніматися зі стільця через коліно?	**11. Чи можете ви самостійно робити покупки для дому?**
○ Не боляче	○ Так, легко
○ Злегка	○ З незначними складнощами
○ Помірно	○ З помірними складнощами
○ Дуже боляче	○ Зі значними складнощами
○ Неможли о	○ Це неможливо
6. Чи кульгали ви при ході?	**12. Чи можете ви спускатися сходами?**
○ Рідко/ніколи	○ Так, легко
○ Іноді	○ З незначними складнощами
○ Часто	○ З помірними складнощами
○ Більшу частину часу	○ Зі значними складнощами
○ Постійно	○ Це неможливо

WOMAC (шкала університетів Східного Онтаріо та МакМастерс).

Симптоми. На ці питання слід відповідати, враховуючи ваші симптоми в колінному суглобі протягом останнього тижня

С1. Чи відчуваєте ви скрежет, клацання чи інші звуки в колінному суглобі?				
○ Ніколи	○ Рідко	○ Іноді	○ Часто	○ Завжди

С2. Ваше коліно зависає або затискається під час руху?				
○ Ні	○ Незначно	○ Помірно	○ Значно	○ Постійно

C3. Чи можете ви повністю випрямити коліно

○ Так, легко	○ Іноді не можу	○ Часто не можу	○ Переважно не можу	○ Не можу взагалі

C4. Чи можете ви повністю зігнути коліно

○ Так, легко	○ Іноді не можу	○ Часто не можу	○ Переважно не можу	○ Не можу взагалі

Тугорухомість. Наступні питання стосуються рухів в кульшовому суглобі протягом останнього тижня.

C5. Наскільки виражена скованість в колінному суглобі зранку після сну?

○ Відсутня	○ Незначна	○ Помірна	○ Виражена	○ Значна

C6. Наскільки виражена скованість в колінних суглобах після сидіння, лежання чи відпочинку в кінці дня

○ Відсутня	○ Незначна	○ Помірна	○ Виражена	○ Значна

Біль

P1. Як часто болить колінний суглоб?

○ Ніколи	○ Щомісяця	○ Щотижня	○ Щоденно	○ Завжди

Яку інтенсивність болю в колінному суглобі ви відчували на минулому тижні під час наступних занять?

P2. Скручування/поворот на коліні

○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P3. Повністю випрямити коліно

○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P4. Повністю зігнути коліно

○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P5. Хода по рівній поверхні

○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P6. Підниматися чи спускатися по сходах

○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P7. Вночі

○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P8. Сидячи или лежачи

○ Ніколи	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P.9. Стоячи прямо

○ Ніколи	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Функція, повсякденне життя. Наступні питання стосуються вашої фізичної функції. Під цим ми маємо на увазі вашу здатність пересуватися та здатність до самообслуговування. Для кожної з наступних дій вкажіть, будь-ласка, ступінь складності, з якою ви мали справу на минулому тижні через ваш колінний суглоб.

A1. Спуск по сходам

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A2. Підніматися по сходам

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A3. Вставати з місця

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A4. Стояти				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A5. Нахилятися до підлоги/піднімати предмет				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A6. Хода по рівній поверхні				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A7. Сідати/виходити з авто чи громадського транспорту				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A8. Йти за покупками				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A . Надягання шкарпеток/панчох				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A10. Підніматися з ліжка				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A11. Зняття шкарпеток/панчох				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A12. Лежачи в ліжку (при перевороті, зберігаючи положення коліна)				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A13. Захід/вихід з ванни/душової кабіни				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A14 Сидячи				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A15. Входити/виходити з туалетної кімнати				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A16. Тяжкі домашні обов'язки (перенос тяжких речей, миття підлоги тощо)				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A17. Легкі домашні обов'язки (приготування їжі, протирання пилюки тощо.)				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Tegner Lysholm Knee Scoring Scale (шкала Тегнер-Лісхольм)

Розділ 1 – Слабкість у суглобі
○ Немає
○ Незначна або періодична
○ Важка і постійна

Розділ 2 – Необхідність додаткової опори
○ Немає
○ Палиця або милиця
○ Витримати навантаження неможлив

Розділ 3 – Біль
○ Немає

Розділ 4 - Нестабільність
○ Немає

○ Непостійний і незначний під час значного навантаження	○ Рідко під час занять легкою атлетикою або інших серйозних навантажень
○ При значному навантаженні	○ Часто під час занять легкою атлетикою або інших серйозних навантажень (або нездатність брати участь)
○ Після прогулянки понад 2 км	○ Іноді в повсякденній діяльності
○ Після прогулянки менше 2 км	○ Часто в повсякденній діяльності
○ Постійний	○ Завжди

Розділ 5 - Блокування	**Розділ 6 - Набряк**
○ Немає	○ Жодного
○ Рідко	○ При сильному навантаженні
○ Періодично	○ При звичайному навантаженні
○ Част	○ Постійний
○ Заблокований суглоб при огляді	

Розділ 7 - Підйом по сходах	**Розділ 8 - Присідання**
○ Немає проблем	○ Немає проблем
○ Дещо порушений	○ Дещо порушене
○ Один крок за один раз	○ Не більше 90°
○ Неможливо	○ Неможливо

Кульшовий суглоб

WOMAC (шкала університетів Східного Онтаріо та МакМастерс).

Симптоми. На ці питання слід відповідати, враховуючи ваші симптоми в кульшовому суглобі протягом останнього тижня

C1. Чи відчуваєте ви скрежет, клацання чи інші звуки в кульшовому суглобі?

○ Ніколи ○ Рідко ○ Іноді ○ Часто ○ Завжди

C2. Труднощі з розведенням ніг?

○ Ні ○ Незначно ○ Помірно ○ Значно ○ Постійно

C3. Чи є труднощі з кульшовим суглобом під час ходи?

○ Ні ○ Іноді ○ Помірні ○ Значні ○ Постійні

Тугорухомість. Наступні питання стосуються рухів в кульшовому суглобі протягом останнього тижня.

C5. Наскільки виражена скованість в кульшовому суглобі зранку після сну?

○ Відсутня ○ Незначна ○ Помірна ○ Виражена ○ Значна

C6. Наскільки виражена скованість в кульшових суглобах після сидіння, лежання чи відпочинку в кінці дня

○ Відсутня ○ Незначна ○ Помірна ○ Виражена ○ Значна

Біль

P1. Як часто болить ккульшовий суглоб?

○ Ніколи ○ Щомісяця ○ Щотижня ○ Щоденно ○ Завжди

Яку інтенсивність болю в кульшовому суглобі ви відчували на минулому тижні під час наступних занять?

P2. Повністю випрямити коліно

○ Не відчував ○ Незначно ○ Помірно ○ Тяжко ○ Неможливо

P3. Повністю зігнути коліно				
○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P4. Хода по рівній поверхні				
○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P5. Підниматися чи спускатися по сходах				
○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P6. Вночі				
○ Не відчував	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P7. Сидячи или лежачи				
○ Ніколи	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P.8. Стоячи прямо				
○ Ніколи	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P.9. Хода по твердій поверхні (асфальт, бетон тощо)				
○ Ніколи	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

P.10. Хода по нерівній поверхні				
○ Ніколи	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Функція, повсякденне життя. Наступні питання стосуються вашої фізичної функції. Під цим ми маємо на увазі вашу здатність пересуватися та здатність до самообслуговування. Для кожної з наступних дій вкажіть, будь-ласка, ступінь складності, з якою ви мали справу на минулому тижні через ваш кульшовий суглоб.

A1. Спуск по сходам				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A2. Підніматися по сходам				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A3. Вставати з місця				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A4. Стояти				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A5. Нахилятися до підлоги/піднімати предмет				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A6. Хода по рівній поверхні				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A7. Сідати/виходити з авто чи громадського транспорту				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A8. Йти за покупками				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A . Надягання шкарпеток/панчох

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A10. Підніматися з ліжка

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A11. Зняття шкарпеток/панчох

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A12. Лежачи в ліжку (при перевороті, зберігаючи положення стегна

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжкой	○ Неможливо

A13. Захід/вихід з ванни/душової кабіни

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A14 Сидячи

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A15. Входити/виходити з туалетної кімнати

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A16. Тяжкі домашні обов'язки (перенос тяжких речей, миття підлоги тощо)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A17. Легкі домашні обов'язки (приготування їжі, протирання пилюки тощо.)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Harris Hip Score (шкала Харріса для кульшового суглоба).

Розділ 1 – Заповнює пацієнт

Біль	**Додаткова опора**
○ Немfє чи можна ігнорувати	○ Немає
○ Легкий, епізодичний, не порушує активність	○ Паличка після тривалих прог лянок
○ Слабкий біль, не впливає на звичайні дії, рідко помірний біль при незвичній вктивності, який потребує прийому НПЗП	○ Паличка більшу ча тину асу
○ Помірний біль, терпимий. Деякі обмеження звичайної діяльності чи роботи. Періодично потрібен прийом НПЗП.	○ Одна милиця
○ Виражений біль, серйозні обмеження активності	○ Дві палички
○ Повністю інвалід, каліка, біль в спокої, прикований до ліжка	○ Дві милиці або неможливо ходити

Відстань, яку може пройти	**Кульгавість**
○ Необмежено	○ Нема
○ Шість кварталів (30 хв)	○ Легка
○ Два або три квартала (10 - 15 хв)	○ Помірна
○ Тільки в приміщенні	○ Тяжка або неспроможність ходити
○ Тільки ліжко і стілець	

Надягання взуття, шкарпеток	**Сходи**
○ Легко	○ Як правило без допомоги перил
○ Складно	○ Як правило за допомогою перил

○ Неможливо	○ Завжди за допомогою перил
	○ Неможливо пересуватися по сходах

Громадський транспорт	Сидіти
○ Може користуватися громадським транспортом	○ Зручно на звичайному стільці до 1 години
○ Не може користуватися громадським транспортом	○ Зручно на звичайному стільці до 30 хв
	○ Неможливо зручно сидіти на стільці

Розділ 2 – Заповнює лікар	
Рухи	
Згинання в суглобі	**Внутрішня ротація**
○ Немає	○ Немає
○ 0 >8	○ 0 > 5
○ 8 > 16	○ 5 > 10
○ 16 > 2	○ 10 > 15
○ 24> 32	○ 15 > 20
○ 40 > 45	○ Немає
○ 45 > 55	○ 0 > 5
○ 55 > 65	○ 5 >10
○ 65 > 70	○ 10 > 15
○ 70> 75	**Приведення**
○ 75> 80	○ Немає
○ 80 > 90	○ 0 >5
○ 90 > 100	○ 5 > 10
○ 100 > 110	○ 10> 15

Hip disability and Osteoarthritis Outcome Score (HOOS) (шкала оцінки порушення функції кульшового суглоба та проявів остеоартриту/остеоартрозу).

Симптоми. На ці питання слід відповідати з урахуванням ваших симптомів в кульшовому суглобі протягом останнього тижня

C1. Чи відчуваєте ви скрегіт, клацання або інші звуки в кульшовому суглобі?				
○ Ніколи	○ Рідко	○ Іноді	○ Часто	○ Завжди

C2. Складно широко розставити ноги				
○ Ні	○ Дещо	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

C3. Складно ходити				
○ Ні	○ Дещо	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Тугорухомість. Наступні питання стосуються тугорухомості кульшового суглоба, яку ви відчували протягом останнього тижня**.** Тугорухомість — це відчуття обмеження або сповільнення легкості, з якою відбуваються рухи в кульшовому суглобі.

C4. Наскільки выраженою є скованість в кульшовому суглобі вранці після сну?				
○ Немає	○ Незначно	○ Помірно	○ Значно	○ Нестерпно

C5. Наскільки виражена скованість в кульшових суглобах після сидіння, лежання чи відпочинку в кінці дня?

○ Немає	○ Незначно	○ Помірно	○ Значно	○ Нестерпно

Який біль в кульшовому суглобі ви відчували на минулому тижні під час наступних занять?

P2. Хода по нерівній поверхні

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірни	○ Виражений	○ Значний

P4. Повне згинання

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P5. Хода по рівній поверхні

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P6. Підніматися або спускатися по сходам

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P7. Вночі

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P8. Сидячи бо лежачи

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P9. Стоячи прямо

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

P10. Хода по твердій поверхні (асфальт, бетон)

○ Ніколи	○ Незначний	○ Помірний	○ Виражений	○ Значний

Функція, повсякденне життя. Наступні питання стосуються функції суглоба. Під цим ми маємо на увазі вашу здатнісь пересуватися та здатність до самообслуговування. Для кожної з наступних дій, будь-ласка, вкажіть ступінь складності, яку ви відчували на минулому тижні через ваш кульшовий суглоб.

A1. Спуск по сходах

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Н можливо

A2. Підняття по сходах

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A3. Вставати з місця

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A4. Стояти

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A5. Нахилитися та підняти предмет з підлоги

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A6. Хода по рівній поверхні

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A7. Сідати/виходити з машини

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A9. Надягати шкарпетки/панчохи

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

А10. Підніматися з ліжка				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

А12. Лежачи в ліжку (перевертатися, зберігати положення колін)				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

А13. Заходити/виходити з ванної (душової кабіни)				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

А14. Сидіти				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

А15. Підніматися/сідати в туалеті				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

А16. Тяжкі побутові навантаження (переносити тяжкі предмети, мити підлогу тощо)				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

А17. Легкі побутові навантаження (приготування їжі, протирання пилюки тощо.)				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Функціональні, спортивні та розважальні заходи Наступні питання стосуються вашої фізичної функції, яка потребує значних зусиль. На питання варто відповідати, в контексті складностей, що пов'язані з кульшовим суглобом протягом останнього місяця.

СП1. Навприсядки				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП2. Біг				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП3. Хода по нерівній поверхні				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжк	○ Неможливо

СП4. Скручування/поворот на травмованому коліні				
○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Якість життя

Q1. Як часто ви відчуваєте проблему з кульшовим суглобом?				
○ Не відчуваю	○ Щомісяця	○ Щотижня	○ Кожного дня	○ Постійно

Q2. Чи змінили ви свій спосіб життя, щоб уникнути потенційно небезпечних дій для вашого кульшового суглоба?				
○ Ні	○ Дещо	○ Помірно	○ Значн	○ Повністю

Q3. Наскільки вас турбує невпевненість у вашому кульшовому суглобі?				
○ Не турбує	○ Дещо	○ Помірно	○ Значно	○ Дуже сильно

Q4. Наскільки складна ситуація з вашим кульшовим суглобом в цілому?				
○ Не складна	○ Незначно	○ Помірно	○ Складна	○ Дуже складна

Oxford Hip Score (Оксфордська шкала для кульшового суглоба).

1. Як би ви описали біль в кульшовому суглобі?	**7. Чи відчували ви раптовий сильний біль (стріляючий, колючий чи судомний) в ураженому кульшовому суглобі?**
○ Відсутній	○ Ніколи

- Дискомфорт
- Незначний
- Помірний
- Сильний

2. Чи були у вас проблеми з миттям та витиранням тіла, пов'язані з вашим кульшовим суглобом?

- Не було взагалі
- Незначні
- Помірні
- Значні
- Це неможливо зробити

3. Чи були у вас проблеми з посадкою або висадкою з авто чи громадського транспорту через ваш кульшовий суглоб (з опорою чи без)

- Ні, жодного разу
- Іноді, кілька разів
- Періодично
- Так, постійно
- Це неможливо зробити

4. Як довго ви можете ходити, доки біль в кульшовому суглобі не стане сильним? (з опорою чи без)

- > 30 хв
- 16 - 30 хв
- 5 - 15 хв
- Тільки біля дому
- Це неможливо

5. Наскільки боляче вам підніматися зі стільця через кульшовий суглоб?

- Не боляче
- Злегка
- Помірно
- Дуже бо яче
- Неможливо

6. Чи кульгали ви при ході?

- Рідко/ніколи
- Іноді
- Часто
- Бльшу частину часу
- Постійно

- 1-2 дн
- Іноді
- Більшість днів
- Постійно

8. Чи турбує біль в кульшовому суглобі вночі?

- Ні
- Одноразово
- Кілька разів
- Переважно так
- Постійно

9. Наскільки біль в кульшовому суглобі заважала вашій звичайній роботі? (в тому числі домашній)

- Не заважала
- Іноді, кілька разів
- Періодично
- Так, постійно
- Це неможливо зробити

10. Чи вдається вам без проблем одягнути шкарпетки, панчохи або колготи?

- Так, легко
- З незначними складнощами
- З помірними складно ами
- Зі значними складнощами
- Неможлииво

11. Чи можете ви самостійно робити покупки для дому?

- Так, легко
- З незначними складнощами
- З помірними складнощами
- Зі значними складнощами
- Це неможливо

12. Чи можете ви підніматися сходами?

- Так, легко
- З незначними складнощами
- З помірними складнощами
- Зі значними складнощами
- Це неможливо

Опитувальник для визначення функції кульшового суглоба у дітей та підлітків (Філіпчук В.В., Крєслов О.І., Озєров І.О., Голюк Є.Л.).

Біль у Вашої дитини?

44 = немає

40 = є, але дитина його ігнорує (не звертає уваги)

30 = є лише після тривалого бігу, стрибків, не обмежує звичайні потреби (ходьба, ходьба по сходах, транспорт, сидіння)

20= є, обмежуючи звичайні потреби(хода, хода по сходах, транспорт, сидіння)

10 = часто та значно обмежує пересування подекуди приймає ліки для знеболення

0 = є постійною, або потребує постійно ліків для знеболення

2 . Чи є накульгування (кульгавість) у вашої дитини?

4 = немає

3 = ледь-ледь (майже непомітне та інколи)

2 = постійне, але помірне

1 = важке постійне

0 = не ходить без додаткової опори

3. Яку відстань може пройти Ваша дитина?

4 = необмежену

3 = 1.5 км

2= 500-700 м

1 = тільки вдома

0 = не ходить

4. Чи є обмеження рухомості кульшового суглоба?

4 = немає

3 = ледь-ледь

2 = помірне

1 = значне

0 = дуже значне (суглоб майже нерухомий)

5.Чи є проблеми у вашої дитини під час спуску по сходах?

4 = немає

3 = ледь-ледь

2 = помірні

1 = значні

0 = по сходах ходити не може

Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score-Child (KOOS-Child) (шкала ушкоджень колінного суглоба та оцінки перебігу сотеоартрозу длят пацієнтів дитячого та підліткового віку).

Симптоми. На запитання слід відповідати в контексті симптомів протягом останнього тижня

C1. Чи набряк в суглобі

Ніколи	Рідко	Іноді	Часто	Завжди

C2. Чи відчуваєте Ви скрежет, клацання чи будь-який інший звук при рухах в колінному суглобі?

Ніколи	Рідко	Іноді	Часто	Завжди

C3. Ваше коліно заклинює чи розбовтане при рухах

Ніколи	Рід о	Іноді	Часто	Завжди

C4. Чи можете Ви повністю випрямити коліно?

Завжди	Часто	Іноді	Рідко	Ніколи

C5. Чи можете ви повністю зігнути коліно?

Завжди	Часто	Іноді	Рідко	Ніколи

Скованість. Наступні питання стосуються ступеню скованості суглоба протягом останнього тижня**.** Скованість — це відчуття обмеження чи сповільнення рухів в колінному суглобі.

C6. Наскільки виражена скованість в колінному суглобі після сну?

Немає	Незначна	Помірна	Виражена	Значн

C7. Наскільки виражена скованість в колінному суглобі після сидіння, лежання чи відпочинку та в кінці дня?

Немає	Незначна	Помірна	Виражена	Значна

Біль

P1. Як часто ви відчуваєте біль в коліні?

Ніколи	Щомісяця	Щотижня	Кожно о дня	Постійно

Наскільки сильний біль в коліні ви відчували на минулому тижні під час наступних занять?

P2. Скручування/поворот на коліні

Не відчував	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

P3. Повне розгинання коліна

Не відчував	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

P4. Повне згинання коліна

Не відчував	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

P6a. Підніматися по сходам

Не відчував	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

P6b. Спускатися по сходам

Не відчував	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

P8a. Сидячи

Не відчував	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

P9. Стоячи прямо на обох ногах деякий час

Не відчував	Незначний	Помірний	Виражений	Значний

Функція, повсякденне життя. Наступні питання стосуються функції суглоба. Під цим ми маємо на увазі вашу здатнісь пересуватися та здатність до самообслуговування. Для кожної з наступних дій, будь-ласка, вкажіть ступінь складності, яку ви відчували на минулому тижні через ваше коліно.

A1. Спуск по сходах

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A2. Восхождение по лестнице

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A3. Вставати з міс я

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A4. Стояти

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A5. Нахилитися та підняти предмет

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A6. Хода по рівній поверхні

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A7. Сідати/виходити з ма ини

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A8. Йти за покупками

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A9. Надягати шкарпетки/панчохи

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A10. Підніматися з ліжка

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A11. Знімати носки/панчохи

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A12. Лежачи в ліжку (перевертатися, зберігати положення колін)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Немож и о

A13. Заходити/виходити з ванної (душової кабіни)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A14. Сидіти

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A15. Підніматися/сідати в ту леті

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A16. Тяжкі побутові навантаження (переносити тяжкі предмети, мити підлогу тощо)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

A17. Легкі побутові навантаження (приготування їжі, протирання пилюки тощо.)

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

Функціональні, спортивні та розважальні заходи

Наступні питання стосуються вашої фізичної функції, яка потребує значних зусиль. На питання варто відповідати, в контексті складностей, що пов'язані з колінним суглобом протягом останніх 7 днів.

СП1. Навприсядки

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП2. Біг

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП3. Стр б и

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП4. Скручування/поворот на травмованому коліні

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП5. На колінах

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	● Неможливо

СП6. Хода по нерівній поверхні

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	○ Неможливо

СП7. Спортивні ігри

○ Не складно	○ Незначно	○ Помірно	○ Тяжко	● Неможливо

Якість життя

Q1. Як часто ви відчуваєте проблему з коліном?

○ Не відчуваю	○ Щомісяця	○ Щ тижня	○ Кожного дня	○ Постійно

Q2. Чи змінили ви свій спосіб життя, щоб уникнути потенційно небезпечних дій для вашого коліна?

○ Ні	○ Дещо	○ Помірно	○ Значно	○ Повністю

Q3. Наскільки вас турбує невпевненість у вашому коліні?

○ Не турбує	○ Дещо	○ П мірно	○ Значно	○ Дуже сильно

Q4. Наскільки складна ситуація з вашим коліном в цілому?

○ Не складна	○ Незначно	○ Помірно	○ Складна	○ Дуже складна

Q5. Наскільки складно відвідувати шкільні заняття через проблеми з коліном?

○ Не складно	○ Дещо	○ Помірно	○ Складно	○ Неможливо

Q6. Наскільки складно зустрічатися та грати з друзями через проблему з коліном?

○ Не складно	○ Дещо	○ Помірно	○ Складно	○ Неможливо

ДОДАТОК 5

ПОКАЗНИКИ АНАЛІЗІВ КРОВІ, ЯКІ ВИЗНАЧАЛИСЯ ПІД ЧАС ЛАБОРАТОРНОГО ОБСТЕЖЕННЯ ПАЦІЄНТІВ

КЛІНІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ

Найменування показників			Норма (в одиницях СІ)
Гемоглобін		ч	130,0-160,0 г/л
		ж	120,0-140,0 г/л
Еритроцити		ч	4,0-5,0 Т/л
		ж	3,9-4,7 Т/л
Кольоровий показник			0,85-1,15
Ретикулоцити			0,2-1,0 %
Тромбоцити			180,0-320,0 Г/л
Лейкоцити			4,0-9,0 Г/л
Швидкість осіданняеритроцитів (ШОЕ)		ч	1-10 мм/год за Панченковим
		ж	2-15 мм/год за Панченковим
Нейтрофили	Мієлоцити		-
	Метамієлоцити		-
	Паличкоядерні		1,0-6,0 %
	Сегментоядерні		47,0-72,0 %
Еозинофіли			0,5-5,0 %
Базофіли			0-1,0 %
Лімфоцити			19,0-37,0 %
Моноцити			3,0-11,0 %
Плазматичні клітини			-

АНАЛІЗ КРОВІ (показники системи згортання)

	Норма*	Одиниці*
Протромбіновий час	13 - 17	с
Протромбіновий індекс	85 - 110	%
МНВ (міжнародне нормалізоване відношення)	0,80 – 1,20	од
АЧТЧ (активований частковий тромбопластиновий час)	25 - 40	с
Тромбіновий час	15 – 20	с
Фібрин	9 – 18	г/л
Фібриноген	2 – 4	г/л

АНАЛІЗ КРОВІ

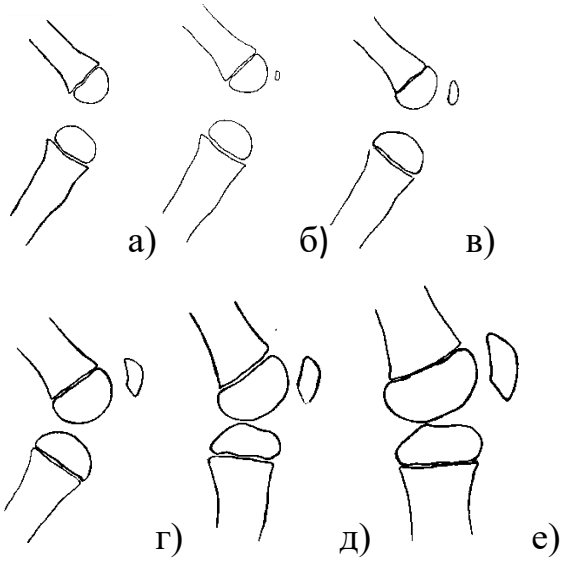
Досліджуванікомпоненти	Норма*	Одиниці*
Глюкоза	4,22 - 6,11	ммоль/л
Сечовина	1,7 - 8,3	ммоль/л
Креатинин	44 – 110	мкмоль/л
Амілаза	30 – 110	Од/л
Кальцій	2,15 - 2,55	ммоль/л
Холестерин загальний	3,0 - 5,5	ммоль/л
Сечова кислота	140 – 350	мкмоль/л
Білок загальний	65 – 85	г/л
Альбумін	35 – 50	г/л
АсАТ	0 – 37	Од/л
АлАТ	0 – 41	Од/л
ЛДГ	200 – 450	Од/л
ГГТ	7 – 50	Од/л
Лужна фосфотаза	38 – 126	Од/л
β_2-микроглобулін	1 – 3	мг/л
Білірубін загальний	1,7 - 21,0	мкмоль/л
Білірубін прямий	0 – 5,0	мкмоль/л

ДОДАТОК 6

ІНДИКАТОРИ СКЕЛЕТНОЇ ЗРІЛОСТІ ЗА РЕНТГЕНОГРАМАМИ КОЛІННОГО ТА КУЛЬШОВОГО СУГЛОБІВ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ

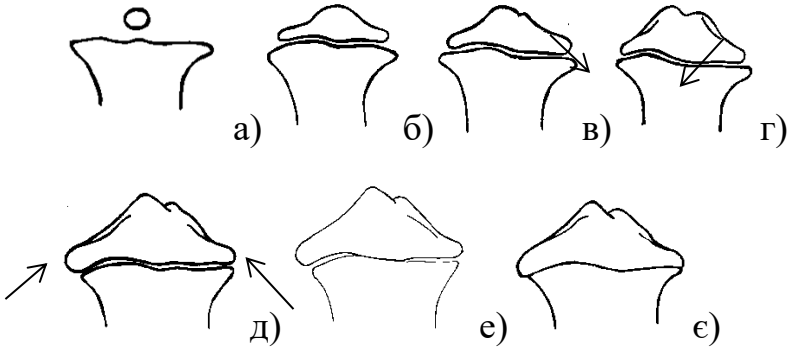
Методика визначення скелетної зрілості за рентгенограмами колінного суглоба у дітей та підлітків (Голюк Є.Л., Філіпчук В.В., Кабацій М.С. Немеш М.М.)

Розвиток надколінника



Схематичне зображення індикаторів зрілості надколінника: а - наявна лише хрящова модель надколінника (1 бал); б - поява ядер окостеніння надколінника (2 бали); в - надколінник має продовгувату форму у вигляді овалу (3 бали); г - надколінник має форму двоопуклого диску, який є більш сплощеним по верхньому краю (4 бали); д - верхній край надколінка є злегка увігнутим, задньо-нижня поверхня надколінка плоска і утворює тупий кут з його нижнім краєм (5 балів); - надколінник має вигляд паралелограма (6 балів).

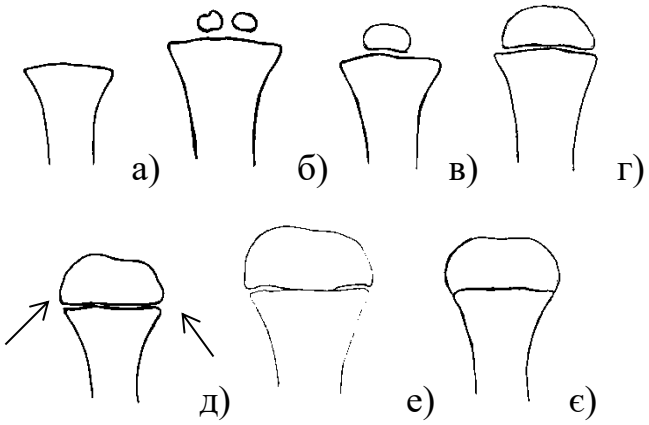
Розвиток проксимального епіфізу великогомілкової кістки



Схематичне зображення індикаторів зрілості проксимального епіфізу великогомілкової кістки: а - поява центру окостеніння, як правило округлої, а іноді трикутної форми (1 бал); б – епіфіз набуває трикутної форми (2 бали); в –

формування міжвиросткового підвищення (3 бали); г – поява ліній на плато епіфіза великогомілкової кістки (4 бали); д – епіфіз по ширині вирівнюється з діафізом (5 балів); е – часткове синостозування (6 балів); є – повне синостозування (7 балів).

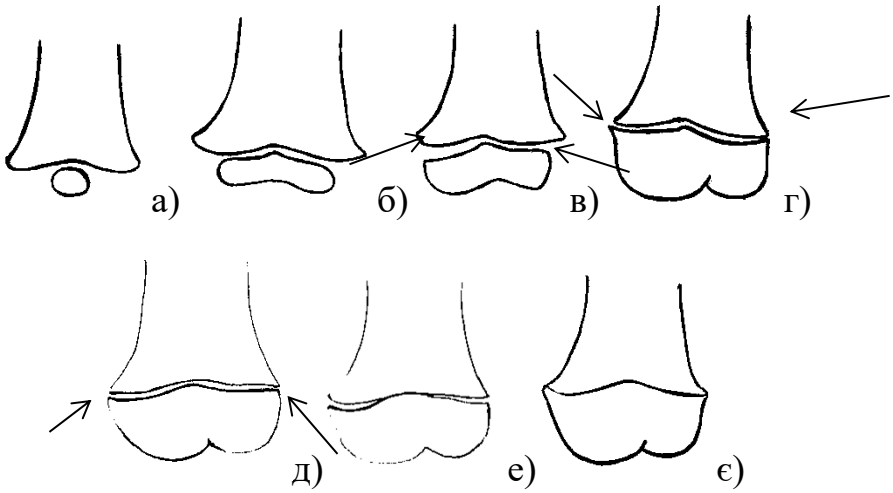
Розвиток проксимального епіфізу малогомілкової кістки



Схематичне зображення індикаторів зрілості проксимального епіфізу малогомілкової кістки: а – хрящова модель епіфізу малогомілкової кістки (1 бал);

б – поява точок окостеніння епіфізу (2 бали); в – епіфіз малогомілкової кістки має вигляд овалу, розміщеного горизонтально (3 бали); г – епіфіз малогомілкової кістки має форму купола (4 бали); д – епіфіз по ширині вирівнюється з діалізом (5 балів); е – часткове синостозування (6 балів); є – повне синостозування (7 балів).

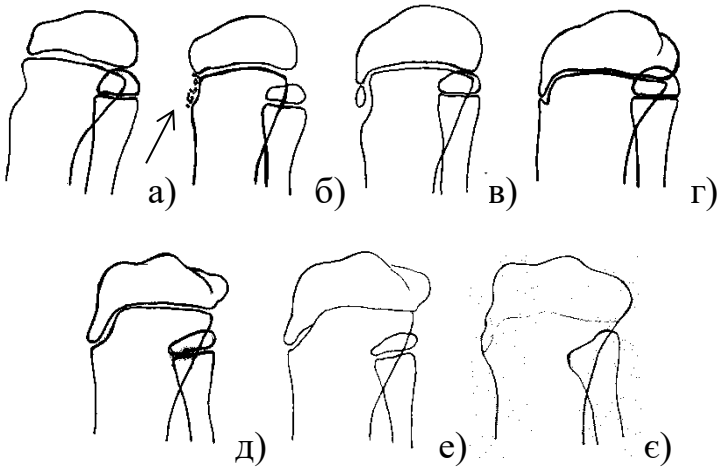
Розвиток дистального епіфізу стегнової кістки



Схематичне зображення індикаторів зрілості дистального епіфізу стегнової кістки: а – ядро окостеніння переважно округлої форми (1 бал); б – видовження епіфіза по ширині, епіфіз набуває куполоподібної форми (2 бали); в – виростки візуалізуються як окремі утворення (3 бали); г – лінія медіального

виростка переходить в сторону латерального виростка та зони росту, загострюється проксимальний медіальний кут епіфізу (4 бали); д – епіфіз по ширині вирівнюється з діалізом (5 балів); е – часткове синостозування (6 балів); є – повне синостозування (7 балів).

Розвиток горбистості великогомілкової кістки



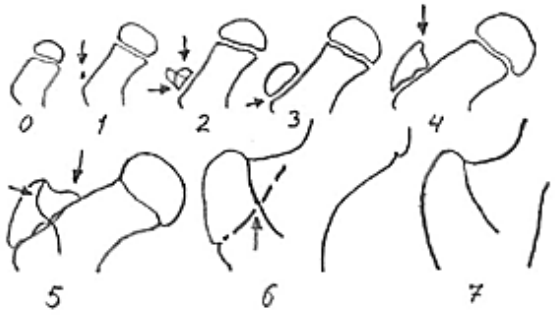
Схематичне зображення індикаторів зрілості горбистості великогомілкової кістки: а – відсутність точок окостеніння горбистості (1 бал); б - поява численних точок окостеніння горбистості (2 бали); в – злиття точок окостеніння в одну велику (3 бали); г – злиття точки окостеніння горбистості з передньо-нижнім краєм епіфіза та формування «клюва» (4 бали); д – видовження та потовщення «клюва», утвореного гористістю та передньо-нижнім краєм епіфіза (5 балів); е – часткове синостозування (6 балів); є – повне синостозування (7 балів).

Методика визначення скелетної зрілості за рентгенограмами кульшового суглоба у дітей та підлітків (Філіпчук В.В., Науменко Н.О., Голюк Є.Л.)

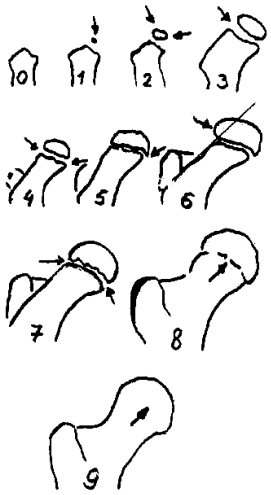
Оцінка розвитку головки стегнової кістки

Схематичне зображення індикаторів зрілості головки стегнової кістки: 0 - головка не візуалізується; 1 - крапкове ядро окостеніння; 2 - збільшення поперечного розміру голівки та набуття епіфізом округлої форми; 3 - формування увігнутості поверхні метаепіфізу, що прилягає до зони росту; 4 - набуття зоною росту прямокутної форми; 5 - формування ”дзьобу” нижнього відділу епіфіза; 6 - „нормалізація” лінії Кляйна; 7 - формування випукло-увігнутого співвідношення метафіза та епіфіза; 8 - часткове синостозування; 9 - повне синостозування.

Оцінка розвитку великого вертлюга



Схематичне зображення індикаторів зрілості великого вертлюга стегнової кістки: 1- одиничні чи множинні ядра окостеніння без чіткої форми; 2-поява двох відносно великих ядер окостеніння овальної форми, що проектуються одне на одне; 3-злиття ядер окостеніння в єдине кісткове утворення, апофізарна зона росту набуває прямолінійної форми; 4-поява додаткових точок окостеніння для верхівки великого вертлюга; 5-наповзання нижньо-



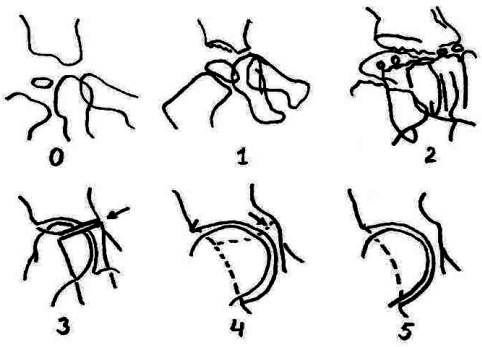
медіального полюсу апофіза на шийку, або поява другого контуру задньої частини вертлюга (залежить від торсійного розвитку стегна); 6-часткове

синостозування великого вертлюга; 7-повне синостозування, „злиття” вертлюга з діафізом стегнової кістки.

Оцінка розвитку верхнього полюса вертлюжної западини

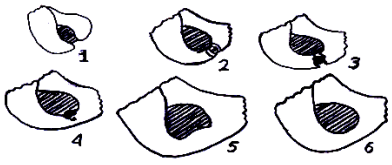
Схематичне зображення індикаторів зрілості верхнього полюса вертлюжної западини: 0 - контур даху рівний або злегка хвилястий, вторинні точки окостеніння не виявляються; 1 - поява в проекції вертлюгової западини численних точок окостеніння; 2 - синостозування вторинних точок окостеніння з дахом вертлюгової западини.

Оцінка розвитку У-подібного хряща



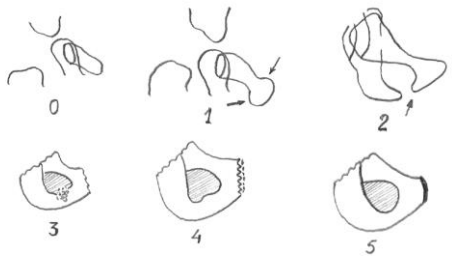
Схематичне зображення індикаторів зрілості У-подібного хряща: 0 - У-подібний хрящ у вигляді широкої смуги просвітлення, нижній контур його у вигляді кута з верхівкою, оберненою донизу; 1 - звуження У-подібного хряща, контури його прямолінійні з вираженими замикальними пластинками; 2 - поява вторинних точок окостеніння; 3 - часткове синостозування в медіальних відділах; 4 - залишкове просвітлення; 5 - повне синостозування.

Оцінка розвитку сіднично-лонного зчленування



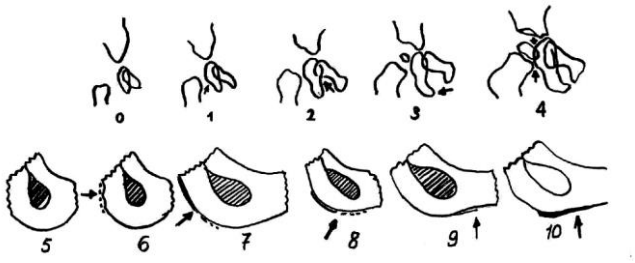
Схематичне зображення індикаторів зрілості сіднично-лонного зчленування: 1- значний проміжок між кістками, відсутність конгруентності поверхонь; 2-зменшення проміжку, хрящова тканина між кінцями гілки сідничної кістки та нижньої гілки лонної відображається у вигляді двох смуг просвітлення, які змикаються кінцями; 3-поява «кальцифікованої мозолі» сполучення; 4-частковий синостоз сполучення; 5-повне синостозування, диференціюється невелике ущільнення на рівні бувшого синхондрозу; 6-ремоделяція кістки: гілки сідничної та лонної кістки представляють собою єдине ціле.

Оцінка розвитку лонної кістки



Схематичне зображення індикаторів зрілості лонної кістки: 0 - нижня гілка лонної кістки не візуалізується; 1 - нижня гілка лонної кістки коротка з заокругленими кінцями; 2 - збільшення довжини осифікованої нижньої гілки до 2/3 її анатомічної довжини; 3 - заключна фаза окостеніння лонної кістки - закриття лонно-сідничного синхондрозу; 4 - поява „хвилястості" контурів симфізеальної поверхні лонних кісток (іноді з наявністю біля верхнього та нижнього краю по одній невеликій вторинній точці окостеніння); 5 - злиття вторинних точок окостеніння з симфізеальною поверхнею, яка набуває рівного контуру.

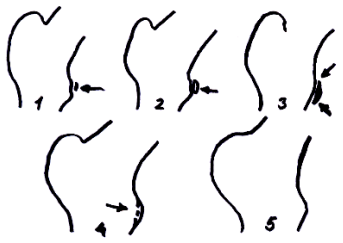
Оцінка розвитку сідничної кістки



Схематичне зображення індикаторів зрілості сідничної кістки: 0 - incisura acetabuli не диференціюється; 1 - виникнення контуру incisura acetabuli; 2 - поява контуру медіальної поверхні тіла сідничної кістки (перші контури «сльози»); 3 - подальша енхондральна осифікація ramus ischii з формуванням «крючка»; 4 - «наповзання» верхньо-латеральних відділів тіла сідничної кістки на контур епіфіза; 5 - поява хвилястого контуру верхньої

поверхні тіла сідничної кістки; 6 - поява хвилястого контуру нижньої поверхні гілки сідничної кістки; 7 - поява точок окостеніння для горбка сідничної кістки у вигляді вузьких склерозованих смуг; 8 - збільшення протяжності точок окостеніння; 9 - злиття окремих точок окостеніння в єдину широку серповидну смугу осифікованого апофіза сідничного горба; 10 - повне синостозування апофіза.

Оцінка розвитку малого вертлюга



Схематичне зображення індикаторів зрілості малого вертлюга: 0 - відсутність контуру малого вертлюга; 1 - ядро окостеніння без певної форми; 2 - ядро окостеніння в формі витягнутого по вертикалі напівкола: випукле медіально, пряме латерально; 3 - формування увігнутості на латеральній поверхні малого вертлюга; 4 - часткове синостозування малого вертлюга; 5 - повний синостоз вертлюга та діафіза.

ДОДАТОК 7

ПЕРЕЛІК ЗАСОБІВ ВИМІРЮВАЛЬНОЇ ТЕХНІКИ, ЯКІ БУЛИ ЗАСТОСОВАНІ ПРИ ВИКОНАННІ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

«Затверджую»
Заступник директора з наукової роботи
ДУ "ІТО НАМН України",
член-кореспондент НАМН України,
д.мед.н., проф._____ Страфун С.С.

ПЕРЕЛІК
засобів вимірювальної техніки, які були застосовані при виконанні дисертаційної роботи

Найменування теми: Регенеративні інтервенційні технології при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів (клініко-експериментальне дослідження)

Характеристика величин, що належать до вимірювання			Засіб вимірювальної техніки, тип, зав. №, рік виготовлення	Діапазон вимірювання величини	Вид метрологічного забезпечення ЗВТ (повірка, атестація), дата і № свідоцтва	Фактична похибка вимірювання величини
найменування величини, що вимірювалась	межі вимірювання величини	допустима похибка вимірювання величини				
1	2	3	4	5	6	7
Еритроцити, клітини Лейкоцити, клітини Тромбоцити клітини	0-18 0-999 0-5000	± 5%	Аналізатор гематологічний HumanCount 5D, № 11041951083, 2022	0-10 0-10 0-5000		± 1%

Зазначена номенклатура вимірювання параметрів відповідає меті та завданням дисертаційної роботи, застосовані засоби вимірювання метрологічно забезпечені.

Перелік засобів медичного обладнання, які були використанні дисертаційної роботи:

1. Апарат ультразвукової діагностики
2. С-дуга
3. Апарат магнітно-резонансної томографії
4. Центрифуга
5. Lobator
6. Мікроскоп