

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Голюка Євгена Леонтійовича

«Регенеративні інтервенційні технології при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів»

(клініко-експериментальне дослідження)

представленої на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.21 – травматологія та ортопедія (222 – Медицина)

ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»

Актуальність теми дослідження.

Остеоартроз є найпоширенішим захворюванням суглобів людини з досить високою частотою передчасного обмеження працездатності, швидким розвитком функціональних порушень і значним погіршенням якості життя через постійний больовий синдром. Попри застосування комплексних консервативних і оперативних методів лікування, ця патологія у 60–65% пацієнтів знижує працездатність, а в 11,5% випадків призводить до інвалідності. Незважаючи на значний прогрес у вивченні численних аспектів етіології та патогенезу остеоартрозу, його лікування залишається актуальною проблемою й дотепер. Це пов'язано з багатофакторністю розвитку остеоартриту, з одного боку, і з симптоматичною дією більшості лікарських засобів, що використовуються для лікування цієї патології, з іншого боку.

На ранніх стадіях остеоартрозу актуальною є проблема відновлення хрящової тканини, яка має низький репаративний потенціал, а за умов відсутності таргетного лікування призводить до повної дегенерації хряща та прогресування захворювання. Відомі на сьогодні медикаментозні засоби для лікування остеоартрозу мають симптоматичний вплив і направлені на зменшення больового синдрому, пригнічення запалення та покращення трофіки хряща. Оперативні втручання, рекомендовані пацієнтам з остеоартрозом, також не передбачають регенерації тканин опорно-рухового апарату. Саме тому розробка і впровадження новітніх ефективних технологій лікування та профілактики прогресування остеоартрозу є актуальним завданням сучасної ортопедії.

Одним із найбільш перспективних та актуальних напрямів в лікування дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів є використання регенеративних інтервенційних технологій. На сучасному етапі активно вивчається можливість використання клітинних та тканинних технологій при

лікуванні дегенеративних уражень суглобів. Найчастіше в клінічній практиці сьогодні застосовуються концентрати з кісткового мозку та жирової клітковини, які містять мультипотентні мезенхімальні стовбурові клітини. Відомо, що стовбурові клітини виділяють велику кількість біологічно активних речовин, прискорюють метаболізм, стимулюють ангиогенез та володіють здатністю до проліферації та диференціації в інші типи клітин. Доведеною є здатність мезенхімальних стовбурових клітин до хондрогенної диференціації шляхом експресії колагену II типу та кислих мукополісахаридів, які є характерними для гіалінового хряща.

Клінічна ефективність засобів регенеративної медицини та широкі можливості застосування біотехнологічних продуктів викликають значний інтерес як серед науковців, так і серед практикуючих лікарів, сприяючи активному впровадженню регенеративних технологій в повсякденну практику. Необхідність поглиблення фундаментальних знань для розуміння ключових процесів регенерації виокремлюють регенеративні інтервенційні технології як новий перспективний напрям ортопедії.

Саме тому, розуміння фундаментальних положень даної проблеми та розробка персоналізованого підходу до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з дегенеративними захворюваннями великих суглобів шляхом вдосконалення методології їх обстеження, визначення критеріїв якості та безпеки біотехнологічних продуктів та аналізу результатів їх впровадження є необхідними та важливими.

Виходячи з вищевикладеного, дисертаційна робота Голюка Євгена Леонтійовича є актуальною та необхідною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами.

Дисертаційне дослідження виконано в рамках планових науково-дослідних робіт науково-практичного центру регенеративної ортопедії та інноваційних біомедичних технологій та відділу реконструктивної ортопедії та травматології дитячого та юнацького віку 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, які висвітлені в дисертаційній роботі, увійшли до НДР «Новітні методи застосування стовбурових клітин і біоінженерних технологій у регенеративній медицині», удостоєної Національної премії України імені Бориса Патона за 2021 рік.

Публікації результатів дослідження.

Матеріали дисертаційної роботи висвітлено у 27 статтях, з яких 26 статей у наукових фахових виданнях України (серед них 10 статей у виданнях, що входять до наукометричної бази Scopus – 7 у виданнях Q4, 3 статті – у виданнях Q3) та 1 стаття в іноземному журналі (Scopus Q4). Опубліковано 33 тези доповідей, отримано 11 деклараційних патентів України. Проведено 29 усних та 8 стендових доповідей, зроблено 2 нововведення, отримано 2 акти впровадження, опубліковані методичні рекомендації, зареєстровано 2 технології.

Наукова новизна дослідження.

Автором вперше проведені експериментальні дослідження, за результатами яких встановлено, що аутологічні мінімально маніпульовані концентрати периферичної крові людини зумовлюють протизапальну прорегенеративну метаболічну дію на поляризацію моноцитів незалежно від віку, статі пацієнта та клітинних показників у нативному біоматеріалі.

Вперше деталізовано класифікацію аутологічних тромбоконтратів та розроблено критерії якості та безпеки маломаніпульованих біотехнологічних продуктів з аспірату кісткового мозку.

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 госпіталю.

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. Деліпідизація такого скаффолду в комплексі із ЗТП забезпечувала підвищення остеоіндуктивних властивостей матриксу, що може супроводжуватись покращенням їх регенеративних властивостей і пролонгацією отриманих терапевтичних ефектів.

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 біотехнологічних продуктів у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів розроблено їх критерії якості та безпеки, які поділяються на лабораторні (морфологічні, морфогенетичні, епігенетичні, проліферативні, мікробіологічні, візуалізаційні) та клінічні, які розділені на дві групи: якість та безпека застосування продукту (побічні дії, ускладнення) та якість і безпека введення продукту (ультразвукова та рентгенологічна навігація).

Практичне значення отриманих результатів.

Практична значимість роботи безсумнівна. Дисертантом розроблено методологію відбору донорів кісткової тканини та методику виготовлення кісткових скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку, 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, а саме 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 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 та методологію їх застосування у пацієнтів дитячого та підліткового віку з 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.

Всі наукові та практичні положення дисертаційної роботи переконливо обгрунтовані використаними в роботі методами дослідження: загальноклінічним, лабораторним, мікробіологічним, рентгеноморфометричним, культуральним та інструментальними методами. Практичне значення результатів дослідження підтверджується 11 деклараційними патентами України, двома нововведеннями та двома технологіями. Автором видані методичні рекомендації, результати дослідження впроваджені в практичну діяльність лікувально-профілактичних закладів України.

Обсяг та структура дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота написана літературною українською мовою та викладена на 456 сторінках машинописного тексту, в тому числі 327 сторінок основного тексту. Вона побудована за загальноприйнятим планом і складається зі вступу, 8 розділів, висновків, списку використаних джерел, 7 додатків. Всі розділи роботи викладені послідовно, ґрунтовно, у науковому стилі. Дисертація проілюстрована 189 рисунками і 38 таблицями. Список використаних джерел містить 402 посилання, з них – 43 кирилицею і 359 – латиницею. Анотація подана державною та англійською мовами з коротким викладом основного змісту.

У Вступі обґрунтовується актуальність обраної теми дисертації. Чітко сформульована мета роботи. Задачі дослідження адекватні поставленій меті. З урахуванням результатів дослідження, визначена їх наукова новизна. Переконливо викладене практичне значення отриманих результатів.

Не викликає ніякого сумніву особистий внесок автора у виконанні дисертаційної роботи. Заслуговує на увагу і значний об'єм апробації результатів роботи. Матеріали дисертації представлені у численних доповідях на вітчизняних та закордонних науково-практичних конференціях, симпозіумах, конгресах та з'їздах ортопедів-травматологів.

У **першому розділі** дисертації висвітлено актуальність та проведено огляд літератури з досліджуваної проблеми. Автор розкрив питання застосування регенеративних інтервенційних технологій у лікуванні остеоартрозу та асептичного некрозу кульшового та колінного суглобів, навів історичні аспекти та сучасний стан питання.

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. Дизайн експериментального напрямку дослідження охоплює вивчення регенеративних властивостей мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів на прикладі периферичної крові та аспірату кісткового мозку, розробки критеріїв їх якості та безпеки, розробки технології виготовлення скаффолдів за методикою госпітального кісткового банку. Дизайн клінічного напрямку роботи представлений розробкою методології обстеження пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів та застосуванням регенеративних технологій.

Розділ 3 присвячений експериментальному *in vitro* дослідженню регенеративних ефектів та характеристик біотехнологічних продуктів. Автором встановлено, що обробка моноцитів аутологічними препаратами Л-ЗТП (лейкоцитарна збагачена тромбоцитами плазма) і ПЗТ (плазма збіднена на тромбоцити) спричиняє їх протизапальну прорегенеративну метаболічну поляризацію. При дослідженні аутологічних тромбоконцентратів не виявлено статистично достовірної різниці між рівнем TGF- β 1 у збагаченій тромбоцитами плазмі між різними статями ($p=0,04$), не встановлено залежності за вмістом TGF- β 1 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.

У **розділі 4** висвітлено методологію виготовлення скаффолдів за технологією госпітального кісткового банку. Автором розроблено методологію обстеження донорів кісткової тканини для виготовлення скаффолдів та встановлено, що придатними для донорства є близько 30% усіх обстежуваних потенційних донорів. Детально описано методологію

виготовлення кісткових скаффолдів з головок стегнових кісток, отриманих від живих донорів під час ендопротезування кульшового суглоба. За результатами експериментального *in vitro* дослідження автором одержані досить цікаві результати. Так, 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. Розділ написаний цікаво, легко сприймається за рахунок якісного ілюстративного та цифрового матеріалу.

В розділі 5 автор розкрив технологію та методику виготовлення маломаніпульованих аутологічних біотехнологічних продуктів з периферичної крові, аспірату кісткового мозку та жирової тканини та критеріїв їх якості та безпеки прикладі концентратів периферичної крові та аспірату кісткового мозку. Детально описані процедура забору крові для виготовлення клітинних концентратів, технології забору аспірату кісткового мозку та ліпоаспірату для виділення стромально-васкулярної фракції жирової тканини. Закцентована увага на протоколах виділення мінімально маніпульованих біотехнологічних продуктів для регенеративних інтервенційних технологій при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів. Розділ структурований, послідовний, методично побудований грамотно.

У розділі 6 представлена методологія 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. Автор акцентує увагу, 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. Розділ написано ґрунтовно та грамотно.

Розділ 7 присвячений аналізу результатів лікування, персоналізований підхід до застосування регенеративних інтервенційних технологій у пацієнтів з остеоартрозом та асептичним некрозом кульшового та колінного суглобів. Концептуальні засади персоналізованого підходу до застосування регенеративних інтервенційних технологій автор побудував на визначені рентгенологічної стадії остеоартрозу та МРТ-критеріїв прогнозування

перебігу асептичного некрозу, встановлені переважання фенотипу остеоартрозу, визначені очікувань пацієнта від лікування, аналізу результатів лабораторного обстеження, аналізу даних анамнезу життя, вибору варіанту біотехнологічного продукту або їх комбінації, аналізу результатів опитування щодо якості життя та результатів додаткових методів дослідження (МРТ або УЗД) для визначення внутрішньосуглобових та парасуглобових змін.

Розділ 8 присвячений узагальненню та обговоренню результатів дослідження.

Висновки роботи повністю дають відповідь на поставлені завдання, мають теоретичне та практичне значення, відображають результати проведених досліджень.

Впровадження результатів у практику.

Результати роботи впроваджено у відділенні мікрохірургії та реконструктивно-відновної хірургії верхньої кінцівки, відділенні тканинної та клітинної терапії, відділенні реконструктивної ортопедії та травматології дитячого та юнацького віку ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», травматологічному відділенні та ортопедичному відділенні Київської міської клінічної лікарні №12, а також КНП «Дрогобицька міська лікарня № 1» ДМР.

Недоліки та зауваження до дисертації, запитання.

Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням з чітко визначеними і вирішеними метою та завданням. У виконаній роботі витримана послідовність наукового пошуку з наступним порівняльним аналізом отриманих даних. Отримані результати наукового дослідження слід вважати такими, що не викликають сумнівів.

При рецензуванні дисертації встановлено, що у деяких місцях тексту зустрічаються не досить коректні стилістичні побудови фраз, окремих рішень, проте вищевказані зауваження не є принциповими і не впливають на наукову і практичну цінність роботи. Зауваження щодо суті, змісту та оформленню роботи немає.

Зміст автореферату співпадає з основними положеннями дисертації.

Питання до дисертанта:

1. Клінічне лікування аутологічним аспіратом кісткового мозку часто описується як «терапія стовбуровими клітинами». Чи коректний такий вислів? За яких умов слід використовувати термін терапія ММСК?

2. Чи простежували Ви залежність ефективності лікування хворих на остеоартроз та асептичний некроз кульшового та колінного суглоба репаративними інтервенційними технологіями від віку хворих, коморбітності та прийому НПЗЗ і гормональних засобів?

3. На Вашу думку чи існує потреба в перегляді протоколів лікування хворих на остеоартроз та асептичний некроз голівки стегнової кістки з доповненням їх засобами регенеративної медицини? Які перспективи та тенденції розвитку регенеративних інтервенційних технологій та формування госпітальних банків тканин в ЗОЗ України?

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Голюка Євгена Леонтійовича на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за темою «Регенеративні інтервенційні технології при остеоартрозі та асептичному некрозі кульшового та колінного суглобів» (клініко-експериментальне дослідження) виконана в ДУ «Національний інститут травматології та ортопедії НАМН України» є самостійним фундаментальним завершеним науковим дослідженням, в якому на значному експериментальному і клінічному матеріалі вирішено проблему з розробки персоналізованого підходу 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.

Дослідження виконано на актуальну тему на сучасному науковому рівні. Отримані результати є новими, достовірними та контрольованими.

Висновки роботи достовірні, обґрунтовані, мають теоретичне та практичне значення і повністю відповідають результатам проведених досліджень. Результати дисертації викладені в опублікованих працях.

Дисертація оформлена відповідно до наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації». Дисертаційна робота за своєю актуальністю, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням відповідає діючим вимогам нормативних документів щодо дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук відповідає вимогам п. 7, 8 та не порушено пункт 9 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197, а її автор Голюк Євген Леонтійович заслуговує на

присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.21 – травматологія та ортопедія (222 – Медицина).

Офіційний опонент

**доктор медичних наук, професор,
завідувач відділення реконструктивної
ортопедії та травматології
Університетської лікарні
Вінницького національного
медичного університету
ім. М.І. Пирогова**



Юрій БЕЗСМЕРТНИЙ

МОЗ України
Університетська лікарня
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
м. Вінниця, вул. Хмельницьке шосе, 104

*"Гідне прогоса
безсмертного Н.О. завісено"
Меремий директор чл. Вилу
ім. М.І. Пирогова
Курчменко Т.В.*