

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
УКРАЇНИ ІМЕНІ П.Л.ШУПИКА

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ОЛІФІРЕНКО ОЛЕКСІЙ ІВАНОВИЧ**

УДК: 616.72-007.248-085.382.032.72:612.111.7]-085.361.018.46.032.72:612.419

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ВИКОРИСТАННЯ РЕГЕНЕРАТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ В ЛІКУВАННІ**  
**ОСТЕОАРТРИТУ**  
**(КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.21– травматологія та ортопедія

222 - медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії  
(кандидата медичних наук)

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

---

О.І.Оліфіренко

Науковий керівник: Мовчан Олександр Степанович  
Заслужений лікар України, доктор медичних наук, професор

Київ-2023

## АНОТАЦІЯ

*Оліфіренко О.І.* Використання регенеративних технологій в лікуванні остеоартриту (експериментально-клінічне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії (кандидата медичних наук) за спеціальністю 14.01.21 «Травматологія та ортопедія». – Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Київ, 2023.

В дисертаційній роботі проаналізовано історичний аспект вивчення остеоартриту та розглянуто різні визначення захворювання, що базуються на сучасному розумінні його етіології та перебігу.

Експериментальна частина роботи складається з двох розділів.

В першому розділі дослідження була застосована модель остеоартриту на лабораторних кролях, яка полягала у одночасному формуванні хрящового дефекту, пересічення передньої схрещеної зв'язки та резекції медіального меніска. Це дозволило відтворити стандартизовану модель захворювання та викликати швидке, топографічно та морфометрично типове пошкодження суглобового хряща.

Експеримент проведений на 16 кролях самцях лінії Шиншила. Спочатку випадковим чином тварин розподілено на чотири групи по чотири тварини: 1) контрольна (інтактна); 2) модель остеоартриту + двократне внутрішньосуглобове введення 0.9% розчину NaCl через 4 та 6 тижнів; 3) модель остеоартриту + двократне внутрішньосуглобове введення збагаченої тромбоцитами плазми через 4 та 6 тижнів; 4) модель остеоартриту + внутрішньосуглобове введення концентрату червоного кісткового мозку через 4 та збагаченої тромбоцитами плазми через 6 тижнів. Експериментальні умови на обох колінних суглобах у кожної тварини були ідентичні.

Через 2 місяці від початку моделювання остеоартриту тварин виводили з експерименту. Епіфізи стегнової та великогомілкових кісток тварин виділяли

для гістологічного та морфометричного досліджень. Морфометрично оцінювали діаметр дефекту, товщину перифокального суглобового хряща, відносну щільність субхондральної кісткової тканини.

Статистичний аналіз груп з остеоартрозом показав, що у групі 3 щільність хондроцитів була більшою від групи 2 на 43,6% ( $P < 0,05$ ), а у групі 4 – на 46,8% ( $P < 0,05$ ). Тобто дистрофічні зміни хондроцитів у перифокальній зоні суглобового хряща стегнової кістки були меншими після ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку.

Аналіз структурних змін субхондральної кістки також засвідчив деструкційні зміни та резорбцію трабекулярної кістки у перифокальній зоні. Слід зазначити, що відносна щільність кісткової тканини у групах 3 і 4 була візуально більшою порівнюючи з групою 2 (57,7% і 50,1% проти 36,2%,  $P > 0,05$ ).

У групі з використанням концентрату аспірата кісткового мозку встановлено більшу товщину гіалінового хряща великогомілкової кістки на 23,1% ( $P < 0,05$ ) порівняно до групи з 0,9 % NaCl та групи з подвійним використанням збагаченої тромбоцитами плазми.

Отримані дані об'єктивізували вплив збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку на суглоб в умовах експериментального моделювання остеоартриту.

Другий експериментальний розділ присвячений розробці та вивченню двох способів отримання збагаченої тромбоцитами плазми. Важливим компонентом, що змінює клінічний ефект від використання збагаченої тромбоцитами плазми є наявність або відсутність лейкоцитів (нейтрофілів, моноцитів, макрофагів та лімфоцитів).

У 27 здорових добровольців проводився забір трьох зразків крові, які в подальшому оброблялись двома різними способами, а отримані біологічні продукти вивчались. Перший зразок крові не оброблявся і був контрольним для визначення показників цільної крові. В обох дослідних зразках обробку крові проводили центрифугуванням 0.6 G протягом 8хв. Принципова

різниця полягала в тому, що другий зразок центрифугували в стерильній пластиковій пробірці і забір плазми був ручним, третій зразок центрифугувався в стерильній закритій шприц-пробірці і забір плазми проводився без взаємодії з повітрям, за допомогою системи конекторів з захопленням лейкоцитарного шару. Отримані матеріали вивчали за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора.

Були отримані наступні середні показники: перший зразок (контрольний) - концентрація тромбоцитів  $228,69 (+-39,15) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $5,18 (+-1,32) \cdot 10^9/\text{л}$ ; другий зразок (пробірка + ручний забір) - концентрація тромбоцитів  $429,38 (+-79,92) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $0,85 (+-0,34) \cdot 10^9/\text{л}$ ; третій зразок (поршень шприца + закритий вакуумний забір) - концентрація тромбоцитів  $541,15 (+-85,49) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $6,56 (+-1,92) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $P < 0.05$ ).

Розроблені некомерційні прості два способи обробки крові для отримання PRP чи L-PRP. Використання в клінічній практиці різних продуктів може змінюватись в залежності від поставлених задач.

В клінічній частині дисертаційної роботи наведено основні принципи діагностики та лікування остеоартриту колінного суглоба. Розроблено фаст-алгоритм діагностики та лікування виділених 4 фенотипів остеоартриту колінного суглоба. Розроблена і детально описана методика пункції, обробки та використання червоного кісткового мозку. Розроблені технічні засоби: кістковомозкова голка та шприц-пробірка, які мають ряд переваг.

В період з 2018 по 2021 рр. на лікуванні знаходилось 114 хворих з діагнозом: Остеоартрит колінного суглоба 1-3ст. за Kellgren-Lawrence. Основна група дослідження - 57 хворих яким проводилось лікування з використанням запропонованих засобів регенеративної медицини (збагачена тромбоцитами плазма (PRP), концентрат червоного кісткового мозку (ВМАС) та гіалуронова кислота (НА). Група порівняння - 57 хворих, лікування проводилось відповідно до міжнародних клінічних протоколів

лікування пацієнтів з остеоартритом, проте без використання будь-яких внутрішньосуглобових ін'єкцій.

Оцінка результатів лікування проводилась через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців за допомогою міжнародної опитувальної шкали Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), даних повторних магнітнорезонансних та рентгенологічних досліджень, а також безпосереднього макроскопічного дослідження при повторних артроскопіях.

Доведено, що стандартна методика лікування (група порівняння) пацієнтів з остеоартритом має виражений короткотерміновий ефект, проте при припиненні або зменшенні фармакологічного лікування – клінічна та функціональна картина погіршується, що може свідчити про прогресування остеоартриту. На початку лікування показник KOOS (Knee and Osteoarthritis Outcome Score) в групі порівняння складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 76.38 ( $\pm 11,55$ ), 3 міс. - 62.03 ( $\pm 9,42$ ), 6 міс. - 48.09 ( $\pm 7,12$ ), 9 міс. - 48.84 ( $\pm 6,32$ ) і 12 міс. - 44.12 ( $\pm 5,56$ ) ( $P < 0,05$ ). В основній дослідній групі за рахунок регенеративного впливу - виражений клінічний та функціональний ефект від лікування з'являвся через три місяці і залишався стійким в терміні спостереження до 12 місяців. На початку лікування KOOS складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 53.13 ( $\pm 7,52$ ), 3 міс. - 82.35 ( $\pm 10,15$ ), 6 міс. - 77.55 ( $\pm 9,52$ ), 9 міс. - 71.46 ( $\pm 10,66$ ) і 12 міс. - 68.52 ( $\pm 8,87$ ) ( $P < 0,05$ ). Детально описано декілька клінічних прикладів.

Спираючись на дані клінічні результати можна стверджувати, що розроблена схема лікування – це сучасна регенеративна терапія, яка допомагає відновити ушкодженні ділянки опорно-рухової системи за рахунок впливу збалансованого комплексу мезенхімальних стовбурових клітин, факторів росту, цитокінів. Розроблений алгоритм отримання та застосування концентрату червоного кісткового мозку є безпечним та раціональним.

**Ключові слова:** *Остеоартрит, збагачена тромбоцитами плазма, концентрат червоного кісткового мозку, регенеративна медицина, артроскопія.*

## ANNOTATION

*Olifirenko O.I.* The use of regenerative technologies in osteoarthritis treatment (experimental and clinical study). – Qualifying scientific work as a manuscript.

A thesis for a PhD degree in speciality 14.01.21 Traumatology and Orthopedics. – Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, 2023.

The thesis presents an analysis of the historical aspect of studying osteoarthritis and a review of various definitions of the disease based on the current understanding of its etiology and course.

The experimental part of the work consists of two chapters.

The first chapter describes the rabbit model of osteoarthritis which consisted of the simultaneous formation of a cartilage defect, transection of the anterior cruciate ligament and resection of the medial meniscus. This made it possible to reproduce a standardized model of the disease and cause rapid topographically and morphometrically typical articular cartilage injury.

The experiment was conducted on 16 male Chinchilla rabbits. Initially, the animals were randomly divided into four groups (four animals in each group): 1) control (intact); 2) osteoarthritis model + two intra-articular 0.9 Sodium Chloride injections after 4 and 6 weeks; 3) osteoarthritis model + two intra-articular platelet-rich plasma injections after 4 and 6 weeks; 4) osteoarthritis model + intra-articular injection of bone marrow concentrate after 4 weeks, followed by platelet-rich plasma injection after 6 weeks. Experimental conditions on both knee joints in each animal were identical.

The animals were withdrawn from the experiment two months after the start of osteoarthritis modeling. The epiphyses of the femur and the tibia of the animals were isolated for histological and morphometric studies. The diameter of the defect, the thickness of the perifocal articular cartilage, and the relative density of the subchondral bone tissue were assessed morphometrically.

The statistical analysis of groups with osteoarthritis showed that in group 3 the density of chondrocytes was higher by 43.6% ( $P < 0.05$ ) than in group 2, and in

group 4 it was higher by 46.8% ( $P < 0.05$ ). It means that dystrophic changes in chondrocytes in the perifocal area of the articular cartilage of the femur were less visible after injection of platelet-rich plasma and bone marrow concentrate.

The analysis of the structural changes in the subchondral bone also showed destructive changes and resorption of the trabecular bone in the parafocal area. It should be noted that the relative density of bone tissue in groups 3 and 4 was visually higher than in group 2 (57.7% and 50.1% vs. 36.2%,  $P > 0.05$ ).

In the group with bone marrow concentrate, the thickness of the hyaline cartilage of the tibia was higher by 23.1% ( $P < 0.05$ ) compared to the group with 0.9% Sodium Chloride and the group with two platelet-rich plasma injections.

The obtained data objectified the effect of platelet-rich plasma and bone marrow concentrate on the joint in the experimental modeling of osteoarthritis.

The second experimental chapter focuses on the development and study of two methods of obtaining platelet-rich plasma. An important component that changes the clinical effect of the use of platelet-rich plasma is the presence or absence of leukocytes (neutrophils, monocytes, macrophages and lymphocytes).

Three blood samples were taken from 27 healthy volunteers with further processing in two different ways, and the obtained biological products were studied. The first blood sample was not processed and was used as a control for whole blood measurements. In both experimental samples, blood processing was carried out by centrifugation at 0.6 g for 8 minutes. The conceptual difference was that the second sample was centrifuged in a sterile plastic tube and the plasma was taken manually, the third sample was centrifuged in a sterile sealed syringe and the plasma was taken without interaction with air using a system of connectors for capturing the leukocyte layer. The obtained materials were studied using an automatic hematological analyzer.

The obtained average values are presented below. In the first sample (control), the concentration of platelets was  $228,69 (+39,15) \cdot 10^9/l$  and the concentration of leukocytes was  $5,18 (+1,32) \cdot 10^9/l$ . In the second sample (tube + manual collection), the concentration of platelets was  $429.38 (+79.92) \cdot 10^9/l$  and

the concentration of leukocytes was  $0.85 (+0.34) * 10^9/l$ . In the third sample (syringe plunger + closed vacuum intake), the concentration of platelets was  $541.15 (+85.49) * 10^9/l$  and the concentration of leukocytes was  $6.56 (+1.92) * 10^9/l$  ( $P < 0.05$ ).

Two non-commercial simple methods of blood processing for obtaining PRP or L-PRP have been developed. The use of different products in clinical practice may vary depending on the tasks.

The clinical part of the thesis presents main principles of diagnosis and treatment of osteoarthritis of the knee joint. A fast algorithm for the diagnosis and treatment of 4 selected phenotypes of osteoarthritis of the knee joint has been developed. The technique of puncture, processing and use of bone marrow has been developed and described in detail. There has been developed such technical aids as bone marrow needle and syringe-tube, which have a number of advantages.

In the period from 2018 to 2021, 114 patients with osteoarthritis of the knee of grade 1-3 according to the Kellgren and Lawrence classification system underwent treatment. The main group of the study involved 57 patients who underwent treatment by means of regenerative medicine, namely platelet rich plasma (PRP), bone marrow aspirate concentrate (BMAC) and hyaluronic acid (HA). The comparison group consisted of 57 patients who underwent treatment in accordance with the international clinical protocols for osteoarthritis treatment, but without the use of any intra-articular injections.

Treatment outcomes were assessed in 1, 3, 6, 9 and 12 months using the international questionnaire Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), data from repeated magnetic resonance imaging and radiologic investigations, as well as direct macroscopic examination during repeated arthroscopies.

It has been proven that the standard method of treatment (comparison group) of patients with osteoarthritis has a pronounced short-term effect; however, when pharmacological treatment is stopped or reduced, the clinical and functional picture worsens, which may indicate the progression of osteoarthritis. At the beginning of treatment, KOOS (Knee and Osteoarthritis Outcome Score) in the comparison



group was 45.25 ( $\pm 6.92$ ), after 1 month – 76.38 ( $\pm 11.55$ ), after 3 months – 62.03 ( $\pm 9.42$ ), after 6 months – 48.09 ( $\pm 7.12$ ), after 9 months – 48.84 ( $\pm 6.32$ ), and after 12 months – 44.12 ( $\pm 5.56$ ) ( $P < 0.05$ ). In the main group of study due to the regenerative influence a pronounced clinical and functional effect of the treatment appeared after three months and remained stable during the observation period up to 12 months. At the beginning of treatment, KOOS was 45.25 ( $\pm 6.92$ ), after 1 month – 53.13 ( $\pm 7.52$ ), after 3 months – 82.35 ( $\pm 10.15$ ), after 6 months – 77.55 ( $\pm 9.52$ ), after 9 months – 71.46 ( $\pm 10.66$ ), and after 12 months – 68.52 ( $\pm 8.87$ ) ( $P < 0.05$ ). Several clinical cases have been described in detail.

Based on the clinical results, it can be claimed that the developed treatment regimen is a modern regenerative therapy that helps to repair damaged areas of the musculoskeletal system due to the effect of a balanced complex of mesenchymal stem cells, growth factors, cytokines. The developed algorithm of obtaining and applying bone marrow aspirate concentrate is safe and efficient.

***Key words:*** *Osteoarthritis, platelet-rich plasma, bone marrow concentrate, regenerative medicine, arthroscopy.*

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

- 1) Федьков Д. Л., Труш І. Ф, **Оліфіренко О. І.** Дисметаболізм хрящової тканини у хворих на остеоартроз: лабораторно-інструментальна діагностика та шляхи медикаментозної корекції. *Український науково-медичний молодіжний журнал.* 2013р. № 1.с.80-84. Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Unmmj\\_2013\\_1\\_23](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Unmmj_2013_1_23)
- 2) Мовчан О.С., **Оліфіренко О.І.** Аутотрансплантація нативного кісткового мозку при порушенні консолідації переломів. *Травма.* Том 17 №2 2016р. с.69-72 Режим доступу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/42589>
- 3) Мовчан О.С., **Оліфіренко О.І.**, Процик А.І., Білоножкін Г.Г. «Стимуляція остеогенезу при сповільненій консолідації діафізарних переломів.» *XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наук. праць; Київ, 5-7 жовтня 2016.* Київ; 2016. с. 250.
- 4) **Оліфіренко О.І.** Стимуляція остеогенезу при сповільненій консолідації переломів. *Інновації в медицині: досягнення молодих вчених* : матер. наук.-практ. конф. з міжнар. участю; Київ, 18 травня 2017. Київ; 2017. с. 85-86. Режим доступу: <https://nmapo.edu.ua/images/Nauka/МКМНЗ.pdf>
- 5) Мовчан О.С., **Оліфіренко О.І.**, Процик А.І., Білоножкін Г.Г. Особливості виконання кісткової пластики в клінічній практиці. *Літопис травматології та ортопедії імені Є. Т. Скляренка.* № 1-2 / 2017 (35-36) с.168 Режим доступу: [https://drive.google.com/file/d/1\\_5g\\_N3rbaKK9DCLgUIr7Nt0-r88Umtm/view](https://drive.google.com/file/d/1_5g_N3rbaKK9DCLgUIr7Nt0-r88Umtm/view)
- 6) **Оліфіренко О.І.** Використання регенеративних технологій в спортивній травматології та ортопедії. Матеріали «*Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених, присвячена Дню науки «Інтеграція здобутків молодих учених-медиків та фармацевтів в міжнародний науковий простір: сьогодення та перспективи*». м.Київ 16-17 травня 2019р. с.57-58
- 7) **Оліфіренко О.І.**, Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І. Наш досвід використання регенеративних технологій при пошкодженнях хряща великих

суглобів. Матеріали «Четверта всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування» м.Приморськ 12-14 вересня 2019р. с.63-64 Режим доступу: [https://sytenko.org.ua/wp-content/uploads/2019/01/program\\_zaporizhzhia\\_2019.pdf](https://sytenko.org.ua/wp-content/uploads/2019/01/program_zaporizhzhia_2019.pdf)

zarporizhzhia\_2019.pdf

8) **Оліфіренко О.І.**, Мовчан О.С. Використання концентрату червоного кісткового мозку та збагаченої тромбоцитами плазми в ортопедії та травматології. *XVIII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наук. праць*; Івано-Франківськ, 9-11 жовтня 2019р. Івано-Франківськ; 2019. с. 156-157

9) **Оліфіренко О.І.** Комплексне лікування пошкоджень суглобового хряща з використанням концентрату червоного кісткового мозку, збагаченої тромбоцитами плазми та препаратів гіалуронової кислоти. *Young Science 2.0: збірник мат. всеукр. наук.-практ. інтернет-конф.*; Київ, 19 лютого 2020. Київ; 2020. с.59-61. Режим доступу: [https://drive.google.com/file/d/1\\_V\\_28RUnasqdKUMBwcoT\\_WEV7aShBGm3/view?usp=sharing](https://drive.google.com/file/d/1_V_28RUnasqdKUMBwcoT_WEV7aShBGm3/view?usp=sharing)

10) **Оліфіренко О.І.**, Савосько С.І. Вивчення структурних порушень колінного суглоба кролів при моделюванні остеоартриту та внутрішньосуглобовому введенні збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку. *Травма*. том 21 №2 2020р  
Режим доступу:<http://www.mif-ua.com/archive/article/49155>

11) **Olifirenko O**, Savosko S, Movchan O Knee joint structural changes in osteoarthritis and injections of platelet rich plasma and bone marrow aspirate concentrate. *Georgian Med News*. 2020 Jun;(303):184-188.PMID: 32841203  
Режим доступу: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32841203/>

12) **Оліфіренко О.І.**, Сергієнко Р.О., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Смірнова О.Ю. Результати використання регенеративних технологій в лікуванні остеоартриту великих суглобів. *Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування»* Запоріжжя-Приморськ 2-4 вересня 2021р. с.61-62

- 13) **Оліфіренко О.І.**, Герцен Г.І., Мовчан О.С., Савосько С.І., Процик А.І., Білоножкін Г.Г. Моделювання остеоартриту на колінних суглобах кролів та вплив збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата червоного кісткового мозку. *Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування»* Запоріжжя-Приморськ 2-4 вересня 2021р. с.62-64
- 14) **Оліфіренко О.І.**, Сергієнко Р.О., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І. Некомерційні способи отримання PRP та PRP-L для клінічної практики в ортопедії та травматології. *Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування»* Запоріжжя-Приморськ, 2-4 вересня 2021р. с.64-65
- 15) **Оліфіренко О.І.**, Герцен Г.І., Мовчан О.С., Сергієнко Р.О., Процик А.І., Остапчук Р.М. Методика отримання PRP та L-PRP для використання в повсякденній практиці лікаря ортопеда-травматолога. *Травма* том 22 №5 2021р. с.10-14 Режим доступу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/51258>
- 16) **Оліфіренко О.І.** Новітні регенеративні технології в лікуванні остеоартриту колінних суглобів. *Young Science 4.0: збірник мат. наук.-практ. конф. з міжнародною участю; Київ, 30 травня 2022. Київ; 2022. с.103-110.*
- 17) **Оліфіренко О.І.**, Герцен Г.І., Мовчан О.С., Сергієнко Р.О., Бурсук Ю.Є. Новітні регенеративні технології в лікуванні остеоартриту великих суглобів. *Травма* том 23 №2 2022р. с.40-46 Режим доступу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/51902>

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	2
СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ .....	10
ЗМІСТ.....	13
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	15
ВСТУП.....	16
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ПИТАННЯ ВИЗНАЧЕННЯ, ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ОСТЕОАРТРИТУ	
1.1.Визначення та епідеміологія остеоартриту.....	25
1.2.Розробка фаст-алгоритму діагностики та лікування остеоартриту колінного суглоба.....	30
РОЗДІЛ 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НА МОДЕЛІ ТВАРИН: ВПЛИВ КОНЦЕНТРАТУ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ ТА ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ НА РОЗВИТОК ОСТЕАРТРИТУ	
2.1. Матеріали та методи дослідження.....	37
2.2. Результати гістологічних та морфометричних досліджень суглобового хряща у колінному суглобі на тлі моделювання остеоартриту в експерименті.....	44
2.3. Результати впливу збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку на структурні зміни суглобового хряща у колінному суглобі з остеоартритом.....	48
РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА ТА АНАЛІЗ МЕТОДИКИ ОТРИМАННЯ PRP та L- PRP ДЛЯ КЛІНІЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ	
3.1 Філософія отримання збагаченої тромбоцитами плазми для клінічного використання: роль концентрації тромбоцитів та лейкоцитів...	59
3.2 Методологія дослідження.....	61
3.3 Отримані результати та їх інтерпретація.....	65

## РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА ТА ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДИКИ ВИКОРИСТАННЯ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ ТА КОНЦЕНТРАТУ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

4.1. Еволюція вивчення і сучасна концепція мезенхімальних стовбурових клітин .....72

4.2. Аналіз наявних та розробка оптимального алгоритму отримання та використання концентрату червоного кісткового мозку в клінічній практиці.....78

4.3. Оптимізація методики за рахунок розробки технічних засобів.....84

## РОЗДІЛ 5 РЕЗУЛЬТАТИ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ ОСТЕОАРТРИТОМ

5.1. Методика використання концентрату червоного кісткового мозку в клінічній практиці.....91

5.2. Дизайн дослідження та проведення його етапів.....101

5.3. Результати лікування хворих з остеоартритом з використанням концентрату червоного кісткового мозку та збагаченої тромбоцитами плазми.....103

5.4. Клінічні приклади.....105

ВИСНОВКИ .....115

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....118

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ..... 120

ДОДАТКИ..... 132

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

BMA - bone marrow aspirate

BMAC - bone marrow aspirate concentrate

CE - фр. Conformité Européenne

CFU-f - colony-forming unit-fibroblasts

ESCEO - European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases

FCFC - fibroblast colony forming cells

FDA - Food and drug administration

HCT/P - human cells, tissues, and cellular and tissue based products

HA - hyaluronic acid

ICD - International Classification of Diseases

IKDC - International Knee Documentation Committee

ISCT - International Society for Cell & Gene Therapy

L-PRP - leucocyte and platelet rich plasma

MSCs - mesenchymal stem cells

NICE - The National Institute for Health and Care Excellence

OARSI - Osteoarthritis Research Society International

PRP - platelet rich plasma

SYSADOA - Symptomatic Slow Acting Drugs for Osteoarthritis

TGF- $\beta$  - transforming growth factor beta

МСК – мезенхімальні стовбурові клітини

НПЗП - нестероїдні протизапальні препарати

ОА – остеоартрит, остеоартроз

ЧКМ – червоний кістковий мозок

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Остеоартрит (ОА) - гетерогенна група захворювань різної етіології з подібними біологічними, морфологічними, клінічними проявами і наслідками, в основі яких лежить ураження всіх компонентів суглоба, в першу чергу хряща, а також субхондральної кістки, синовіальної оболонки, зв'язок, капсули, навколосуглобових м'язів.

ОА є найпоширенішою формою артриту, що вражає приблизно 15% всього населення земної кулі та має великий вплив на суспільство як з точки зору якості життя людей, так і на високі витрати для системи охорони здоров'я [1]. ОА частіше розвивається в суглобах нижніх кінцівок (89,7%), а саме колінного і тазостегнового суглобів [2]. Його поширеність за останні 20 років подвоїлась внаслідок значної тенденції до старіння населення та збільшення питомої ваги серед пацієнтів молодих вікових груп [3]. Клінічні та рентгенографічні дослідження показали, що поширеність ОА збільшується з віком, від 1% у людей <30 років, до 10% в віці <40 років і до більш ніж у 50% осіб старше 60 років. ОА однаково поширений у чоловіків і жінок у віці від 45 до 55 років, але частіше зустрічається у жінок після 55 років [4].

В Україні в 1993-2017 роках ОА був в лідерах за показниками поширеності, захворюваності та причин первинної інвалідності серед захворювань кістково-м'язової системи та сполучної тканини [5].

Фактори ризику для ОА включають ожиріння, дисплазію суглобів (аномальна анатомія суглоба), травму, професійну активність і спадковість[6].

З стародавніх часів лікарям нерідко доводилося стикатися з ОА. У своїй праці «Про суглоби» Гіппократ розглядав його разом з подагрою і іншими захворюваннями суглобів. Англійський лікар В. Геберден описав вузлики, в подальшому названі його ім'ям, які розглядалися як один із проявів ОА. У другій половині ХІХ століття французький клініцист Дж. М. Шарко виділяв з числа ревматичних захворювань ОА і ревматоїдний артрит, і розглядав їх як



основні варіанти одного патологічного процесу - деформуючого артрити. У 1904 р. американський ортопед Р. Осгуд, спираючись на рентгенологічні дослідження, запропонував термін «атрофічний артрит». Однак самостійною нозологічною формою ОА офіційно був визнаний лише в 1911 р., коли на міжнародному конгресі лікарів в Лондоні було запропоновано розділити всі захворювання суглобів на первинно-запальні і первинно-дегенеративні [7].

На сьогодні в МКХ-10 ці захворювання представлені в рубриці М15–М19 «Артрози», хоча в англomовній літературі замість терміна «остеоартроз» частіше використовують більш коректний термін «остеоартрит», що підкреслює важливу роль запального компонента в розвитку і прогресуванні захворювання.

Було запропоновано кілька підходів до боротьби з дегенерацією хряща: від фармакологічних до хірургічних варіантів, спрямованих на зниження симптомів захворювання і відновлення задовільної функції суглоба [8, 9]. Проте, жоден з них не продемонстрував достовірного потенціалу відновлення хрящової поверхні, щоб запобігти прогресуючому розвитку ОА.

Концепція «регенераторної медицини» в лікуванні захворювань опорно-рухової системи була сформована в 1930 рр. і до цього часу базується на стимуляції природніх механізмів відновлення в таргетній ділянці. Термін «пролотерапія», як регенераторна методика лікування, згадується в літературі з середини ХІХ ст., хоча стимуляція росту тканин за рахунок використання подразнюючих речовин відома ще з часів Гіппократа [10]. Останні десятиріччя спостерігається бурхливий розвиток регенераторного напрямку медицини. Численні розробки вже покинули стіни науково-дослідних лабораторій і широко використовуються в клінічній практиці лікарів різних спеціальностей. З кінця ХХ ст. в багатьох напрямках медицини набуло популярності використання збагаченої тромбоцитами плазми. Вивчено фундаментальні механізми дії, розроблено протоколи виготовлення та використання, отримано численні наукові підтвердження клінічної ефективності. На думку авторів, застосування збагаченої тромбоцитами

плазми діє через механізм вивільнення тромбоцитами факторів росту (IGF-1, bFGF, PDGF, TGF- $\beta$  та ін.).

Sampson і співавтори [11,12] умовно класифікували ін'єкційні засоби регенераторної медицини на три покоління. До першого віднесли три класи пролотерапії та ін'єкції похідних гіалуринової кислоти; до другого – збагачену тромбоцитами плазму та похідні крові, що класифіковані в 2016 р. [13] та до третього покоління – некультивовані похідні червоного кісткового мозку та стромальної фракції. Перевагами використання останніх є широкий спектр факторів росту та стовбурових клітин. Була розроблена технологія виділення та культивування мезенхімальних стовбурових клітин, які здатні до самовідтворення та детермінування в остеобластному та хондробластному напрямках. Проте культивовані мезенхімальні стовбурові клітини на сьогодні не рекомендуються до клінічного використання американськими та європейськими контролюючими органами. Також культивування мезенхімальних стовбурових клітин є доволі складним, тривалим і коштовним процесом в умовах оснащеної біотехнологічної лабораторії протягом декількох тижнів. Ряд дослідників вивчали здатність мезенхімальних стовбурових клітин до самовідтворення та подальшого детермінування в хондробластну лінію і виявили, що закономірності в умовах *in vivo* не спрацьовують як в умовах *in vitro*. Відбувається зміна парадигм в сторону використання природніх не культивованих регенераторних субстратів, таких як концентрат червоного кісткового мозку та мезенхімальна стромальна фракція.

Концентрат аспірата кісткового мозку – це сучасна регенеративна терапія, яка допомагає природнім шляхом відновити ушкодженні ділянки опорно-рухової системи за рахунок впливу збалансованого комплексу мезенхімальних стовбурових клітин, факторів росту та цитокінів. На відміну від аспірата червоного кісткового мозку, в його концентраті зосереджується більший потенціал в меншому об'ємі. Також відсутній гемоглобін, продукти розпаду якого можуть нести негативний вплив на суглобовий хрящ. Філософія

механізму дії червоного кісткового мозку в чомусь повторює запуск відновних процесів як при переломі плоскої кістки чи епіфіза трубчастої кістки.

До цього часу залишається багато нез'ясованих аспектів у лікуванні ОА з використанням збагаченої тромбоцитами плазми та червоного кісткового мозку, зокрема:

- відсутні уніфіковані протоколи отримання і використання збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку;
- не вивчено поєднаний вплив збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату червоного кісткового мозку на складові суглоба в умовах експериментального моделювання остеоартриту;
- відсутність єдиного клінічного підходу до комплексного лікування ОА в залежності від стадії захворювання та визначення місця в ньому регенераторних ін'єкційних засобів;
- відсутність чітких показів та протипоказів до використання збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку при ОА.

Вищезазначені недоліки та складності у лікуванні хворих з ОА потребують свого вирішення і обумовлюють актуальність виконання нашого дослідження.

**Мета дослідження:** Покращити результати лікування хворих з остеоартритом колінних суглобів на основі удосконалення та інтеграції регенеративних технологій в комплексне лікування.

**Завдання дослідження:**

1. Розробити фаст-алгоритм діагностики та лікування остеоартриту колінного суглоба.
2. Дослідити два різні способи обробки крові для отримання збагаченої тромбоцитами плазми з низькою концентрацією лейкоцитів та збагаченої тромбоцитами плазми з високою концентрацією лейкоцитів.

3. Вдосконалити технічні засоби для забору кісткового мозку та отримання концентрату червоного кісткового мозку.
4. В експерименті на кролях визначити ефективність використання внутрішньосуглобових ін'єкцій збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку при моделюванні остеоартриту
5. Визначити показання, протипоказання, переваги і недоліки використання регенеративних технологій в комплексному лікуванні хворих з остеоартритом.
6. Вивчити результати використання концентрату червоного кісткового мозку, збагаченої тромбоцитами плазми та препаратів гіалуронової кислоти при лікування пацієнтів з остеоартритом.

**Об'єкт дослідження:** Пацієнти з остеоартритом великих суглобів. Лабораторні тварини з експериментальною моделлю остеоартриту.

**Предмет дослідження:** Структурно-функціональні зміни суглобів. Патоморфологічні зміни колінного суглоба експериментальних тварин.

**Методи дослідження:**

1. Клінічний;
2. Інструментальний (рентгенографія, УЗД, КТ, МРТ);
3. Статистичний;
4. Артроскопічний;
5. Експериментальний;
6. Гістологічний;
7. Гематологічний.

Основні клінічні матеріали, відповідні інструментальні, апаратні та лабораторні ресурси доступні на лікувально-діагностичних базах кафедри ортопедії і травматології НУОЗ України імені П.Л.Шупика, МПП «Реабілітація», МЦ «МедБуд», віварію НУОЗ України імені П.Л.Шупика.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних

робіт кафедри ортопедії і травматології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика. Номер державної реєстрації НДР 0118U100294 (термін виконання 2018-2022 рр.).

У межах теми автором самостійно оцінено результати лікування пацієнтів із остеоартритом колінних суглобів, зокрема, із застосуванням внутрішньосуглобових ін'єкцій аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми, концентрату червоного кісткового мозку та препаратів гіалуронової кислоти. Розроблено модель експериментів та проаналізовано їх результати. Розроблені практичні рекомендації щодо лікування пацієнтів із остеоартритом з використанням засобів регенеративної медицини.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Вперше розроблено фаст-алгоритм діагностики та лікування остеоартриту з подальшими рекомендаціями щодо використання регенеративних технологій.

Уперше в експерименті проаналізовано та оцінено морфологічні зміни компонентів колінного суглоба за умов застосування внутрішньосуглобових ін'єкцій збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку на моделі остеоартриту в кролів.

Удосконалено спрощені методики отримання PRP та L-PRP для використання в повсякденній клінічній практиці. Вивчено вміст тромбоцитів та лейкоцитів в отриманих клітинних продуктах.

Вивчено клінічний ефект від комплексного використання концентрату червоного кісткового мозку, збагаченої тромбоцитами плазми та препаратів гіалуронової кислоти при остеоартриті колінних суглобів.

Удосконалено технічні засоби для оптимізації процесу отримання збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату аспірата червоного кісткового мозку.

### **Практичне значення очікуваних результатів**

Виконана робота дозволить поліпшити результати лікування хворих на остеоартрит за рахунок поєднаного використання концентрату червоного

кісткового мозку, збагаченої тромбоцитами плазми та препаратів гіалуронової кислоти. Розроблені та проаналізовані способи отримання PRP та L-PRP спростять клінічну практику лікаря ортопеду-травматологу. Розроблені нами технічні засоби для проведення пункції червоного кісткового мозку та його центрифугування зроблять роботу з ВМАС безпечнішою, якіснішою та ефективнішою. Це кістковомозкова голка EBM (easy bone marrow) (заявка на патент України на корисну модель номер u 2022 04628) та шприц - пробірка Оліфіренка (заявка на патент України на винахід номер а 2022 04629)

### **Особистий внесок здобувача**

Дисертація є завершеним науковим дослідженням здобувача. Дисертантом зібрано клінічний матеріал дослідження та проведено його аналіз, самостійно вивчено дані інструментальних досліджень, здійснене контрольоване спостереження, персонально проведено аналіз медичних карт стаціонарних хворих. Автор брав участь у виконанні оперативних втручань всіх хворих, включених в дослідження.

Під час проведення експериментальної роботи з кролями – дисертант самостійно спланував і здійснив хірургічне втручання та спостереження за лабораторними тваринами. Згідно визначеної методики виконував відповідні внутрішньосуглобові ін'єкції.

Науковий аналіз, статистична обробка даних, узагальнення результатів дослідження виконані безпосередньо дисертантом. Здобувач самостійно підготував до друку статті, написав всі розділи дисертаційної роботи. Формулювання та обґрунтування висновків дисертації проведено сумісно з науковим керівником.

Автор висловлює щирю вдячність доценту кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця Савоську С.І. за цінну допомогу в обробці морфологічного матеріалу.

Автор висловлює щирю вдячність доктору медичних наук Сергієнку\_Р.О. за вагому консультативну і матеріально-технічну допомогу під час виконання дисертаційної роботи.

### **Впровадження у практику**

Наукові і практичні результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес кафедри ортопедії і травматології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика та в клінічну практику відділень ортопедії та травматології міської клінічної лікарні № 8 м. Києва, відділення ортопедії та травматології міської клінічної лікарні № 6 м. Києва, МПП «Реабілітація», відділення ортопедії та відділення травматології Чернігівської міської лікарні №2, «Бесарабський лікувально-діагностичний центр».

### **Апробація результатів роботи**

Основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації дисертаційного дослідження доповідалися та обговорювалися на наукових форумах різних рівнів: V (67) Міжнародний науково-практичний конгрес студентів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (м. Київ, 2013 р.), «XVII з'їзд ортопедів-травматологів України» (м. Київ, 5-7 жовтня 2016 р.), «Інновації в медицині: досягнення молодих вчених» (м. Київ, 18 травня 2017 р.), Всеукраїнська науково-практична конференція молодих учених, присвячена Дню науки «Інтеграція здобутків молодих учених-медиків та фармацевтів в міжнародний науковий простір: сьогодення та перспективи» (м. Київ, 16-17 травня 2019 р.), «Четверта всеукраїнська науково-практична конференція “Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування”» (м. Приморськ, 12-14 вересня 2019 р.), «18 з'їзд ортопедів-травматологів України» (м. Івано-Франківськ, 9-11 жовтня 2019 р.), «Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція “Young science 2.0”» (м. Київ, 19 лютого 2020 р.), «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування» (м. Запоріжжя-Приморськ, 2-4

вересня 2021 р.), «Науково-практична конференція з міжнародною участю “Young science 4.0”» (м. Київ, 30 травня 2022 р.)

### **Публікації**

За темою дисертації опубліковано 17 наукових робіт, з них 5 - статті у провідних фахових спеціалізованих виданнях, рекомендованих ДАК МОН України, 1 наукова стаття у зарубіжному фаховому виданні, що індексоване в Scopus, 11 – тез доповідей опубліковані у збірках матеріалів українських та міжнародних науково-практичних конференцій.

### **Структура та об'єм дисертації**

Дисертація складається з вступу, 5-ти розділів власних досліджень, висновків, списку використаної літератури, додатків. Робота викладена на 144 сторінках друкованого тексту, вміщує 66 рисунків, 6 таблиць. Список використаної літератури представлений 108 джерелами, із яких 99 - роботи зарубіжних авторів.



## РОЗДІЛ 1

# СУЧАСНИЙ СТАН ПИТАННЯ ВИЗНАЧЕННЯ, ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ОСТЕОАРТРИТУ

### 1.1.Визначення та епідеміологія остеоартриту

Остеоартрит (ОА) є основною причиною інвалідності у людей старшого віку [14]. Виснажливий біль і прогресуюча втрата функції суглобів є двома основними клінічними ознаками, обидві з яких призводять до значного погіршення якості життя. Дегенерація суглобового хряща, що покриває кісткові кінці всіх суглобів, є ознакою ОА. Проте ОА не є простим дегенеративним захворюванням, при якому хрящ з часом зношується. Швидше, це прогресуючий і складний дисбаланс всього остеохондрального вузла та інших тканин, що утворюють суглоб, серед яких є субхондральна кістка, синовіальна оболонка, зв'язки, меніски (у разі ОА колінного суглоба), суглобова губа (у разі ОА кульшового суглоба) і навколосуглобові м'язи.

За оцінками фахівців ВООЗ, понад 500 мільйонів людей страждають від виснажливих клінічних симптомів ОА у всьому світі [15]. Близько 80% населення мають рентгенологічні ознаки ОА. Через старіння населення та епідемію ожиріння, особливо в економічно розвинених країнах, захворюваність на ОА продовжує зростати [16]. Хоча ОА вражає всі суглоби, на колінні суглоби припадає ~ 83% загальної кількості ОА [17]. Ці дані свідчать про постійно зростаюче епідеміологічне та соціально-економічне значення ОА для людства. Проте існує «невідома земля» ОА, «тіньова зона» раннього ОА, де дегенеративні процеси тільки починаються, як це чудово сформульовано в праці Кон Е, Filardo G, Marcacci M. [18]. Хрящ зберігає частину своєї регенеративної здатності, яка назавжди втрачається на більш пізніх стадіях захворювання [19]. Незважаючи на клінічну важливість, ця рання фаза ОА іноді проходить непомічено або ігнорується. Однак, як з діагностичної, так і з терапевтичної точок зору, це найцікавіший період протягом тривалого процесу захворювання. Хоча пацієнти часто не

відчувають біль або лише мінімальні симптоми, такі як дискомфорт і незначну скованість рухів. В цій фазі пріоритетними можуть бути консервативні, профілактичні або нові регенеративні методи лікування.

За даними статистики Всесвітньої Організації Охорони здоров'я на болі в суглобах скаржаться 97% осіб серед людей старше 60 років. Це найбільш розповсюджена група захворювань опорно-рухового апарату сьогодні. Але і молоді люди все частіше стикаються з цими проблемами [19].

За весь час вивчення ОА розроблено велику кількість різних номенклатур, термінологій та класифікацій, що створює значну плутанину при вивченні цього захворювання. В своїй роботі 1996 р. Cervini С. наводить більше тридцяти визначень ОА, а на думку Коваленка В.М. та співавторів (2010 р.) цей перелік не повний і його можна продовжувати [20,21].

В науковій медичній роботі можуть вивчатись захворювання представлені в Міжнародній класифікації хвороб. Тому в International Classification of Diseases (ICD) Version 2019 - це захворювання в рубриках M15-M19 «Артрози» вказано з поміткою, що термін остеоартрит використовується як синонім артрозу або остеоартрозу [22]. Таким чином, підкреслюється їх повна тотожність і актуальність обох. В англійській літературі в більшості робіт використовується термін «остеоартрит», в пострадянському просторі, Німеччині, Франції та деяких інших країнах використовується термін «остеоартроз». Перший термін вказує на переважання запальних процесів в перебігу захворювання і на нашу думку є актуальним в світлі сучасних знань про ОА. Другий варіант має семантику від слова «діартроз» - синовіальний суглоб. Суфікс «-ōsis» часто хибно сприймається як вказівка на дегенеративну природу процесу [23].

Перше широке консенсусне визначення ОА було представлене в 1986 році: «Остеоартрит (ОА) є результатом як механічних, так і біологічних подій, які дестабілізують нормальне поєднання деградації та синтезу суглобового хряща та субхондральної кістки. Захворювання може бути ініційоване кількома факторами, включаючи генетичні, проблеми розвитку,

метаболічні та травматичні. ОА зачіпає всі тканини синовіального суглоба. Зрештою, ОА проявляється морфологічними, біохімічними, молекулярними та біомеханічними змінами як клітин, так і матриксу, що призводить до розм'якшення, фібриляції, виразкування та втрати суглобового хряща, склерозу та виснаження субхондральної кістки, формування остеофітів та субхондральних кіст. У клінічних проявах ОА характеризується болем у суглобах, хворобливістю, обмеженням рухів, крепітацією, іноді випотом та різним ступенем місцевого запалення» [24].

American Academy of Orthopedic Surgeons опублікували більш лаконічне визначення у 1994 р.: «Остеоартрит – це група захворювань, які можуть мати різну етіологію, але подібні біологічні, морфологічні та клінічні результати. Вражають не лише суглобовий хрящ, але охоплюють весь суглоб, включаючи субхондральну кістку, зв'язки, капсулу, синовіальну оболонку та навколосуглобові м'язи. В кінцевому результаті суглобовий хрящ дегенерує з фібриляцією, тріщинами, дефектами та повною втратою суглобової поверхні» [25].

За визначенням Osteoarthritis Research Society International (OARSI): «Остеоартрит – це захворювання рухливості суглобів, що характеризується клітинним стресом і деградацією позаклітинного матриксу, ініційованим мікро- та макропошкодженням, що активує дезадаптивні реакції відновлення, включаючи прозапальні шляхи вродженого імунітету. Захворювання проявляється спочатку у вигляді молекулярного порушення (ненормальний метаболізм суглобової тканини), а потім анатомічних та/або фізіологічних порушень (що характеризуються деградацією хряща, ремоделюванням кісток, утворенням остеофітів, запаленням суглобів і втратою нормальної функції суглоба)» [26].

Остеоартрит (ОА) в клінічних рекомендаціях 2019 р. Американським коледжем ревматології визначається як «найбільш поширена форма артриту і є однією з ключових причин інвалідності серед літніх людей. Найчастіше уражаються колінні, кульшові суглоби та дрібні суглоби кистей. ОА

характеризується патологією всього суглоба, включаючи деградацію хряща, ремоделювання кістки, утворення остеофітів і синовіальне запалення, що призводить до болю, скутості, набряку та втрати фізіологічної функції суглоба» [27].

За визначенням The National Institute for Health and Care Excellence (NICE) «Остеоартроз – патологія, що характеризується локалізованою втратою хряща, ремоделюванням прилеглої кістки та супутнім запаленням. Різноманітні травми можуть викликати необхідність відновлення суглоба. Це може бути повільний, але ефективний процес відновлення, який часто компенсує початкову травму, що призводить до структурно зміненого, але безсимптомного суглоба. У деяких людей через серйозну травму або скомпрометований відновний процес організм не може компенсувати зміни, що в кінцевому підсумку призводить до симптоматичного ОА, це можна розглядати як «спільний збій». Це пояснює надзвичайну варіабельність клінічних проявів та результатів, які можна спостерігати між людьми, а також у різних суглобах у однієї людини» [28].

Раніше ОА розглядався як просто хвороба «зносу». Вважалося, що хронічне перевантаження та порушення біомеханіки суглоба призводять до руйнування суглобового хряща та, як наслідок, запалення. Згодом це призводить до скутості, набряку та втрати рухливості. Проте відомо, що ОА є набагато складнішим процесом, що складається із запальних та метаболічних факторів [29,30]. ОА найбільш помітний своїм впливом на суглобовий хрящ, який сильно деградує протягом захворювання. Суглобовий хрящ - це гладкий хрящ на кінці довгих кісток і всередині міжхребцевих дисків. Він забезпечує поверхню низьким рівнем тертя при рухах, одночасно здатний передавати великі навантаження. Хоча період напіврозпаду колагену в хрящі довгий, він і відновлюється також дуже повільно, якщо взагалі відновлюється, навіть при незначних травмах. Незважаючи на те що найбільш помітні зміни має саме хрящ, уражається весь суглоб, включаючи синовію, суглобові зв'язки та субхондральну кістку [30,31]. Запалення, як активний синовіт так і системна

відповідь, відіграє ключову роль у патогенезі ОА. Одним з потенційних пояснень є те, що деградований хрящ викликає реакцію чужорідного тіла в синовіальних клітинах. Це може призвести до продукції металопротеїназ, синовіального ангіогенезу та вироблення запальних цитокінів, що призводить до подальшого руйнування хряща. Інші теорії віддають центральну роль активованим синовіальним макрофагам і вродженій імунній системі в прогресуванні ОА [32]. Системне запалення також може відігравати роль у патогенезі ОА. Дослідження Yusuf E. та його колег [33] (2010 р.) показало, що маса тіла є сильним фактором ризику розвитку ОА рук. Це свідчить про інші наслідки ожиріння, крім ваги тіла та механіки суглобів. Це та інші дослідження припускають, що системні фактори, пов'язані з ожирінням, метаболічним синдромом та атеросклерозом, ймовірно, відіграють системну роль у розвитку ОА, можливо, через лептин та інші адипокіни. Також досліджуються прямий вплив процесу старіння на хрящ (через «старіння» хондроцитів, пошкодження ДНК, старіння хрящової матриці, окислювальний стрес, мітохондріальну дисфункцію та аутофагію), а також вплив ендокринної системи та естрогену на стан суглобів [34,35].

## **1.2. Розробка фаст-алгоритму діагностики та лікування остеоартриту колінного суглоба**

Колінний суглоб з біомеханічної точки зору можна уявити як два суглоби — великогомілково-стегновий і надколіннико-стегновий. Великомілково-стегновий суглоб складається з двох компартментів. Гомілково-стегновий суглоб дозволяє передавати вагу тіла від стегнової кістки до великогомілкової кістки, забезпечуючи шарнірну ротацію суглоба в сагітальній площині разом з невеликим ступенем осьової ротації великогомілкової кістки. Вважається, що осьове навантаження при прямій кінцівці статично більше падає на медіальний компартмент, а динамічно під час згинально-розгинального руху задіюється латеральний компартмент за рахунок зміщення точки опори. Надколіннико-стегновий суглоб динамічно перерозподіляє вектор навантаження від чотириголового м'яза стегна більшою мірою під час згинально-розгинальних рухів. Загалом, рідко буває так, що всі три компартменти вражаються рівномірно. Як правило, є превалююча проблема, і як наслідок, різні підтипи ОА. Відповідно, мають відрізнитись і підходи до лікування. Також важливим фактором є вік пацієнта, в якому ОА маніфестував. Нами розроблено фаст-алгоритм діагностики та лікування основних 4 фенотипів ОА колінного суглоба (Рис.1.1.) та місце регенеративних внутрішньосуглобових ін'єкцій.

### **1) Остеоартрит інтенсивних фізичних навантажень**

Характерний для пацієнтів 18-35 років. Рівень фізичних навантажень – інтенсивні: професійні та спортсмени-аматори, військові, люди, які виконують важку фізичну працю. Цей фенотип зазвичай немає рентгенологічних змін. Патологічні процеси протікають в хрящовій тканині і проявляється це різними ступенями пошкодження хряща, від хондромалаяції до повношарових дефектів.

Скарги характерні для цього типу ОА: біль ниючого характеру після фізичних навантажень, в другій половині тренування. Біль зменшується або зникає після відпочинку, не має чіткої локалізації. Клінічно при виконанні

тестів – суглоб стабільний, недеконфігурований. Допустимий незначний синовіт. Ознак пошкодження менісків не виявляється.

Лікування при пошкодженнях хряща 1-2 ст за Оутербридж є комплексним консервативним:

Розвантаження протягом 6-8 тижнів;

Сухий холод через тканину після тривалої ходьби чи при появі больового синдрому протягом 15-20 хв локально;

Нестероїдні протизапальні локально широко в формі гелю;

Нестероїдні протизапальні per os при наростанні больового синдрому;

Внутрішньосуглобові ін'єкції ВМАС, PRP, HA;

SYSADOA курсом 3 місяці.

При пошкодженнях хряща 3-4 ст за Оутербридж, зазначене вище комплексне консервативне лікування проводиться після артроскопічного дебрідмента та мікротунелізації ділянок пошкодження хряща.

Після відновлення і повернення до повних фізичних навантажень важливим моментом є профілактика повторних перевантажень суглоба.



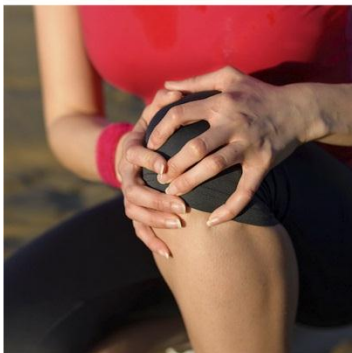
**1.Остеоартрит  
інтенсивних фізичних  
навантажень**



**2.Ранній «механічний»  
остеоартрит**

## Клінічні типи остеоартриту колінного суглоба

**3.Пателофеморальний  
остеоартрит**



**4.Пізній персистучий  
«запальний» остеоартрит**



Рис.1.1.

### **2) Ранній «механічний» остеоартрит**

Характерний для пацієнтів 35-45 років. Рівень фізичних навантажень – різноманітні, в більшості випадків помірні фізичні навантаження. Цей фенотип зазвичай має помірні рентгенологічні зміни: субхондральний склероз, помірне звуження суглобової щілини. Патологічні процеси протікають в усіх складових суглоба. Пусковим механізмом розвитку даного



типу ОА є «механічна» проблема великогомілково-стегнових компартментів: нестабільність внаслідок пошкодження тих чи інших складових зв'язкового апарату, осьові деформації колінного суглоба, пошкодження менісків, масивні пошкодження хряща.

Скарги та клінічна картина суттєво відрізняються в залежності від першоджерела проблеми.

Лікування направлене на усунення механічної першопричини. Наприклад, якщо пошкоджений меніск – виконується його шов чи парціальна резекція, якщо пошкоджений зв'язковий апарат – здійснюється його реконструкція, якщо пошкоджений хрящ - виконується його дебрідмент, якщо є осьові деформації – проводяться корегуючі остеотомії і тп.

Після виконання хірургічного лікування проводиться комплексне консервативне лікування для регенерації пошкоджених тканин та попередження прогресування ОА з використанням внутрішньосуглобових ін'єкцій ВМАС, PRP, HA.

### **3) Пателофеморальний остеоартрит**

Характерний більше для пацієнтів жіночої статі віком 18-35 років. Рівень фізичних навантажень – помірний або незначний. Відмічається після зміни режиму навантажень. Цей фенотип зазвичай має рентгенологічні ознаки порушення конгруентності в пателофеморальному компартменті: високе чи низьке стояння наколінника, латералізація, гіперпресія і тп. Патологічні процеси протікають в хрящовій тканині і проявляється це різними ступенями пошкодження хряща, від хондромаліяції до повношарових дефектів.

Скарги характерні для даного типу ОА: біль ниючого характеру після фізичних навантажень, в другій половині тренування в передньому відділі колінного суглоба. Біль посилюється при присіданні, при глибоко зігнутих колінах, стоянні колінами на твердій поверхні. Хруст під наколінником під час згинально-розгинальних рухів. Біль зменшується або зникає після відпочинку. Позитивний тест Золена. Клінічно при виконанні стрес-тестів –

великогомілково-стегновий суглоб стабільний, недеконфігурований. При мануальній перевірці наколінника часто відмічається порушення його положення та рухливості. Допустимий незначний синовіт. Ознак пошкодження менісків не виявляється.

Лікування має два вектори: усунення першопричини та лікування наслідків.

1) Направлене на усунення першопричини, тобто порушення біомеханіки пателофemorального компартменту. Може досягатись за рахунок:

- ЛФК з інструктором на підсилення м'язів привідної групи стегна та медіальної голівки чотириголового м'яза стегна, стретчинг м'язів зовнішньої поверхні стегна;
- використання еластичних бандажів пателярного типу;
- хірургічна корекція порушення конгруентності пателофemorального компартмента.

2) Направлене на лікування наслідків – пошкодження хряща.

Лікування при пошкодженнях хряща 1-2 ст за Оутербридж є комплексним консервативним:

Розвантаження протягом 6-8 тижнів;

Сухий холод через тканину після тривалої ходьби чи при появі больового синдрому протягом 15-20 хв локально;

Нестероїдні протизапальні локально широко в формі гелю;

Нестероїдні протизапальні per os при наростанні больового синдрому;

Внутрішньосуглобові ін'єкції ВМАС, PRP, HA;

SYSADOA курсом 3 місяці.

При пошкодженнях хряща 3-4 ст за Оутербридж зазначене вище комплексне консервативне лікування проводиться після артроскопічного дебрідмента та мікротунелізації.

Після відновлення і повернення до повних фізичних навантажень важливим аспектом є профілактика повторних перевантажень скомпрометованих ділянок хряща.

#### 4) Пізній персистуючий «запальний» остеоартрит

Характерний більше для пацієнтів віком після 45 років. Рівень фізичних навантажень – незначний або помірний. Пов'язаний з розвитком інволютивних процесів. Цей фенотип зазвичай має виражені рентгенологічні ознаки характерні для класифікації Kellgren-Lawrence. Патологічні процеси протікають в усіх складових суглоба.

Скарги характерні для даного типу ОА: біль ниючого характеру після фізичних навантажень, в спокої, на зміну метеоумов, вночі. Хруст в колінному суглобі під час згинально-розгинальних рухів. Біль зменшується або зникає після відпочинку. Клінічно при виконанні тестів – суглоб стабільний, недеконфігурований. Допустимий синовіїт. Можуть бути ознаки пошкодження менісків. Колінний суглоб стабільний, навіть при пошкодженнях тих чи інших структур зв'язкового апарату. Розвивається контрактура.

Лікування при ОА 1-2 ст. Kellgren-Lawrence є комплексним консервативним:

ЛФК;

Використання еластичних розвантажуючих бандажів;

Сухий холод через тканину після тривалої ходьби чи при появі больового синдрому протягом 15-20 хв локально;

Нестероїдні протизапальні локально широко в формі гелю;

Нестероїдні протизапальні per os при наростанні больового синдрому;

Внутрішньосуглобові ін'єкції ВМАС, PRP, HA;

SYSADOA курсом 3 місяці.

При ОА 3-4 ст. Kellgren-Lawrence показане тотальне ендопротезування колінного суглоба. При наявності протипоказань чи інших індивідуальних перепон до ендопротезування, можливе комплексне консервативне лікування після детального пояснення пацієнту природи захворювання, ризиків, шансів на покращення.

Поділивши ОА на 4 фенотипи нам вдалось виділити місце регенеративних технологій в клінічній практиці. За даними дослідження до виділених фенотипів відноситься 82.3 % від загальної кількості пацієнтів з остеоартритом, які звертаються за допомогою до лікаря ортопеда-травматолога.

## РОЗДІЛ 2

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НА МОДЕЛІ ТВАРИН: ВПЛИВ КОНЦЕНТРАТУ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ ТА ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ НА РОЗВИТОК ОСТЕАРТРИТУ

#### 2.1. Матеріали та методи дослідження

Результати аналітичного огляду літератури підтвердили те, що ОА є найбільш поширеним дегенеративним захворюванням колінного суглоба. Висока частота інвалідності у пацієнтів з ОА диктує необхідність досліджень патогенезу захворювання та нових способів лікування [36]. Експериментальні дослідження дозволяють вивчити та кількісно оцінити патологічні зміни структурних утворень колінного суглоба, а також оцінити вплив різних лікарських засобів та клітинних технологій на запобігання цих змін. Спонтанний розвиток ОА у дослідних тварин є тривалим і, як правило, пов'язаний з віковими змінами та іншими факторами. Доказова медицина вимагає оцінки потенційної дії лікарських засобів за умов апробування на стандартизованій моделі дегенеративних змін. При цьому використовують різні види лабораторних тварин. Моделювання на колінних суглобах кролів має ряд переваг:

- відносна доступність і невибагливість лабораторних кролів;
- анатомічна схожість з колінними суглобами людини ( три компартменти, меніски, зв'язковий апарат, схожа біомеханіка);
- розміри суглоба суттєво більші в порівнянні з лабораторними щурами та мурчаками.

Описано три основні напрямки моделювання ОА: 1) шляхом введення в суглоб хімічних речовин; 2) за рахунок фізичних факторів (значного навантаження); 3) механічними і травматичними порушеннями, що призводять до відсутності стабільності суглоба [37]. В описаних моделях з використанням хімічних сполук - не виключений системний вплив на

організм і розвиток остеоартриту. Значні навантаження на суглоб можуть провокувати тривалі страждання тварин. Розповсюдженою моделю розвитку остеоартриту колінних суглобів кролів – є порушення стабільності колінного суглоба за рахунок пошкодження зв'язкового апарату. Найчастіше проводиться пошкодження передньої схрещеної зв'язки [38,39,40].

В Україні розроблена та описана методика моделювання остеоартриту в кролів за рахунок пересічення великогомілкової зв'язки, формування хрящового дефекту та термічної коагуляції [41,42]. Стандартизовано відтворити модель неможливо, адже не вказана зона пошкодження хряща та глибина дефекту, чим та як проводилась термокоагуляція, на якому рівні та чим пересікалась зв'язка і тому подібне.

Хірургічне моделювання остеоартриту залежить від багатьох змінних і його неможливо абсолютно об'ємно описати, а тим паче повторити іншому досліднику в інший час та в іншому місці. Тому у дослідженнях була розроблена та застосована власна модель ОА, яка полягала у одночасному формуванні стандартизованого хрящового дефекту, пересічення передньої схрещеної зв'язки та резекції медіального меніска і жирового тіла. Це дозволило відтворити стандартизовану модель захворювання та викликати швидко, топографічно та морфометрично типове пошкодження суглобового хряща та розвиток остеоартриту.

Експеримент проведений на 16 кролях (32 препарати колінних суглобів) самцях лінії Шиншила вагою 2,47 [2,25-2,7] кг. Вік тварин до початку експерименту був 11–12 місяців. Тварини утримувались у віварії НУОЗ України імені П.Л.Шупика за умов вільного доступу до їжі та води. Спочатку випадковим чином тварин розподілено на чотири групи по 4 тварини: 1) контрольна (інтактна); 2) модель ОА + двократне внутрішньосуглобове введення 0.9% розчину NaCl через 4 та 6 тижнів; 3) модель ОА + двократне внутрішньосуглобове введення збагаченої тромбоцитами плазми через 4 та 6 тижнів; 4) модель ОА + внутрішньосуглобове введення концентрату червоного кісткового мозку

через 4 та збагаченої тромбоцитами плазми через 6 тижнів. Експериментальні умови на обох колінних суглобах в кожній тварини були ідентичні. В умовах операційної віварію тварин вводили в наркоз з допомогою Кетамін 35мг/кг в/м + Ксилазин 5 мг/кг в/м. Колінні суглоби обстригались та оброблялись розчинами антисептиків.

Хірургічне втручання:

1) Скальпелем виконували медіальний поздовжній парapatеллярний доступ з вивихом наколінника.

2) З допомогою свердла діаметром 1.5 мм з обмежувачем по глибині 3 мм формували хрящовий дефект центральної частини медіального виростка стегна. Обертання свердла проводили повільно мануально.

3) Ножицям пересікали передню схрещену зв'язку в середній третині. Контроль повного пересічення.

4) Ножицям виконували повну резекцію медіального меніска та жирового тіла.

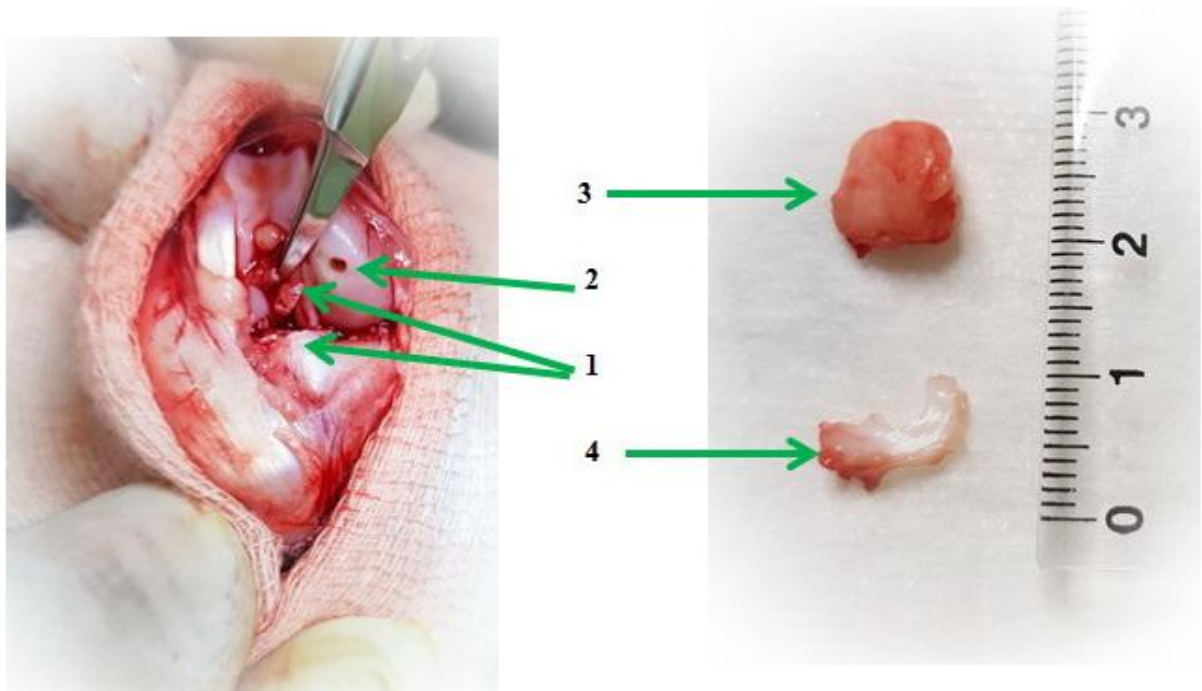


Рис. 2.1. Інтраопераційний вигляд колінного суглоба

- 1- тібіальна та феморальна культя передньої схрещеної зв'язки
- 2- стандартний дефект хряща медіального виростка стегна
- 3- видалене жирове тіло
- 4- видалений медіальний меніск.

Рани промивали водними розчинами антисептиків та вшивали наглухо нитками 3-0 (Vicryl, Ethicon Inc) та в подальшому кожного дня оброблялись повідон-йодом (Бетадин, Egis) до заживлення. Також проводилась антибіотикопрофілактика Цефтріаксон 40мг/кг 1 раз/ добу 3 дні в/м (Basalt, Україна ). Інфекційних чи інших післяопераційних ускладнень не виявлено.

Через 4 тижні:

Перша група – контроль, інтактна.

Друга група – виконували внутрішньосуглобове введення 0.5 мл 0,9 % NaCl в два колінні суглоби.

Третя група - проводили забір з вушної вени вакутайнером 4.5 мл крові + 3,8% цитрату натрія. Центрифугування на 0.6 G 8хв центрифугою



Elmi SM-6M (Латвія). Розділення крові на шари, ручний забір 0.5 мл тромболейкоцитарного шару та внутрішньосуглобове введення в два колінні суглоби.

Четверта група - під накрізом забір з крила тазу кістковомозковою голкою 11G типу Jamshidi (Biomedical, Італія) у вакутайнер 4.5 мл червоного кісткового мозку + 3,8% цитрату натрія. Центрифугування на 0.6 G 8хв центрифугою Elmi SM-6M (Латвія). Розділення червоного кісткового мозку на шари, ручний забір 0.5 мл багатого шару та внутрішньосуглобове введення в два колінні суглоби.



Рис. 2.2. Етапи забору кісткового мозку

- 1,2- кістковомозкова голка товщиною 11G типу Jamshidi (Biomedical, Італія)
- з додатковими бічними отворами
- 3- центрифуга Elmi CM-6M (Латвія)
- 4- голка розміщена в задньому крилі таза
- 5- процес пункції
- 6- вигляд кісткового мозку після розділення на шари.

Далі через 2 тижні: група 1 – інтактна, група 2 – повторне внутрішньосуглобове введення 0.5 мл 0,9 % NaCl, групи 3 та 4 внутрішньосуглобове введення збагаченої тромбоцитами плазми.

Через 2 місяці від початку моделювання ОА тварин виводили з експерименту шляхом введення летальної дози тіопенталу натрію (ПАТ «Київмедпрепарат»).

Робота з тваринами була проведена відповідно до правил Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей, а також відповідно до Законодавства України. Проведення наукового дослідження схвалено та надано дозвіл комісією з питань етики НУОЗ України ім. П.Л. Шупика – протокол засідання №11 від 19.11.2018 р.

Епіфізи стегнової та великогомілкових кісток тварин виділяли для гістологічного та морфометричного досліджень. Демінералізацію зразків проводили у розчині OsteoFast 2 (BioGnost Ltd., Хорватія). Після відмивання усі зразки заливали у парафін (Leica Surgipath Paraplast Regular) за стандартною методикою. Одержували сагітальні парафінові зрізи, забарвлювали гематоксиліном з еозином, альціановим синім з пікрофуксином і досліджували на мікроскопі Olympus BX 51. Морфометрично оцінювали діаметр дефекту (мкм), товщину перифокального суглобового хряща (мкм), відносну щільність субхондральної кісткової тканини. Морфометрію проведено із використання програми Carl Zeiss (AxioVision SE64 Rel.4.9.1). статистичну оцінку проведено у програмі Origin

Lab version 8.0. Міжгрупові відмінності оцінювали за непараметричним критерієм Крускала-Уоліса. Результати представлено у вигляді медіани з меншим та більшим квантилем (Me[Q1-Q3]). Різницю вважали статистично вірогідною при  $P < 0,05$ .

## **2.2. Результати гістологічних та морфометричних досліджень суглобового хряща у колінному суглобі на тлі моделювання остеоартриту у експерименті**

Результати гістологічних та морфометричних досліджень. Через 2 місяці після моделювання ОА у дослідних кроликів було вивчено структурні зміни епіфіза стегнової та великогомілкової кісток колінного суглоба. У всіх досліджених зразках виявлено ділянку моделювання хрящового дефекту. На структурному рівні це полягало у локальному механічному дефекті хрящової поверхні суглоба епіфіза стегнової кістки. Дефект на 3/4 або тотально пронизував товщину хряща, який був представлений гіаліновою хрящовою тканиною. У сагітальній проекції тотального зрізу епіфіза кістки оцінено діаметр дефекту усіх зразків та оцінено середнє його значення (2085,7 [1239,5-2352,4] мкм). Результати лінійних вимірювань контрольної та дослідних груп тварин наведено у таблиці 2.1.

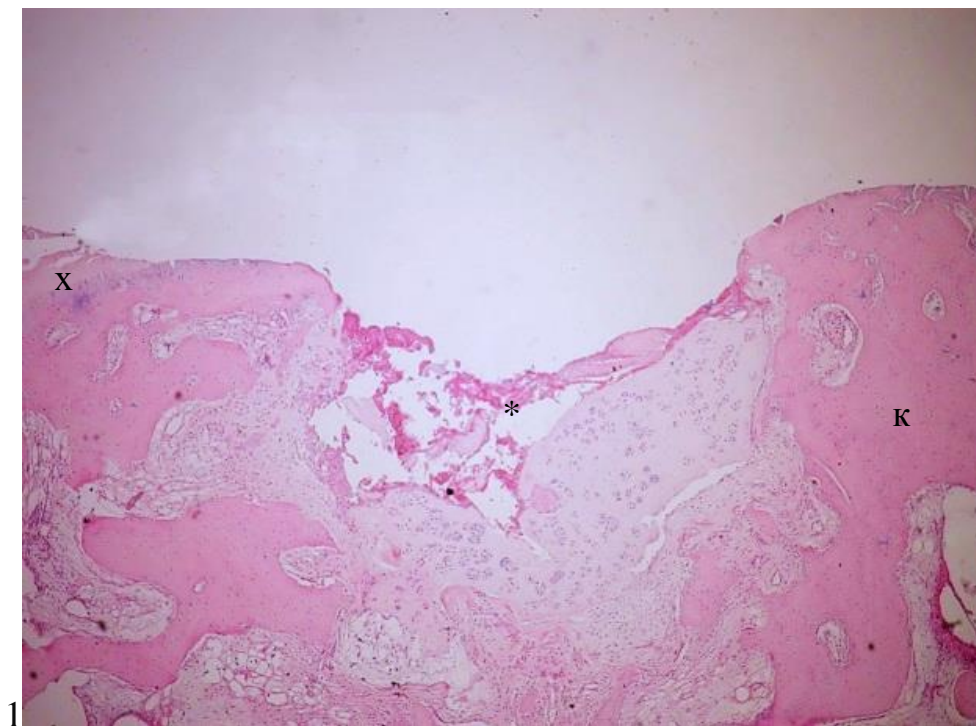
Таблиця 2.1. Діаметр дефекту у епіфізі стегнової кістки через 2 місяці після моделювання остеоартриту (Me[Q1-Q3])

Група	Зона дефекту, мкм
Група 1 – контроль	-
Група 2 – остеоартрит	2085,7 [1239,5-2352,4]
Група 3 – остеоартрит + PRP/PRP	1576,9 [1422,3-2040,7]
Група 4 – остеоартрит + ВМАС/PRP	1903,1 [1238,6-2686,7]

Ділянка первинного механічного пошкодження не обмежилась тунельним дефектом. Хрящовий дефект характеризувався порушенням перифокального хряща і субхондральної кісткової тканини (рис. 2.3.: 1). У

деяких зразках ділянка дефекту була заповнена сполучною тканиною, що містила фібробласти, в деяких випадках реєстрували появу осередків ретикулярної тканини. Новоутворену фіброретикулярну тканину також реєстрували за межами контуру суглобового хряща, покривала тонким шаром поверхню хряща. Останнє пояснюється міграцією клітин з субхондральної ділянки через наскрізний дефект.

У деяких зразках зменшилась щільність червоного кісткового мозку, відбулось заміщення сполучною тканиною. Навколо дефекту реєстрували крововиливи і новоутворені стазовані судини. На рівні дефекту відбулась тотальна редукція хряща, тому оцінено лише середній діаметр цих зон. При цьому у перифокальному епіфізарному хрящі відмічено часткове збереження хондромукоїда та ізогенних груп хондроцитів, хоча структура хряща була різко змінена. Основними змінами були зменшення товщини, редукція клітинного складу, що пов'язано з дегенеративними змінами. Морфологічно це виявлено як порожні лакуни, позбавлені хондроцитів, або клітини з пікнозом.



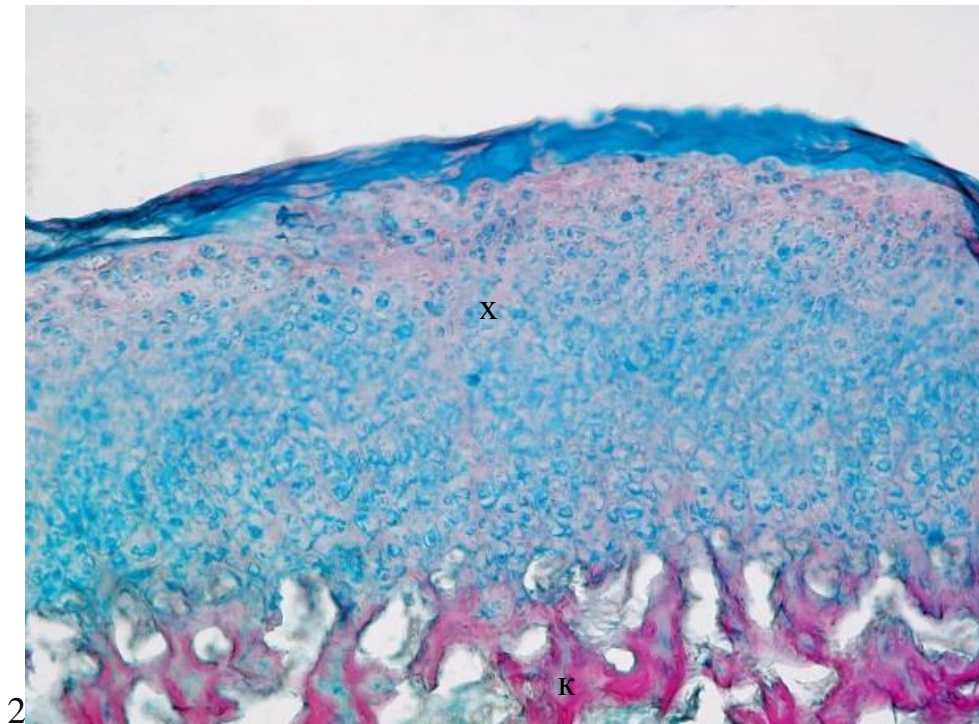


Рис. 2.3. Дефект суглобової поверхні стегнової кістки кролів після моделювання остеоартриту. 1 - зона дефекту; 2 - перифокальна ділянка. Примітка: \* дефект суглобового хряща; х – хрящ; к – кісткова тканина. 1: гематоксилін-еозин, об. 4, ок. 10; 2: альциановий синій-пікрофуксин, об. 10, ок. 10.

При забарвленні альциановим синім, який реагує з кислими сульфатованими глікозамінгліканами, виявлено зменшення інтенсивності реакції перичелюлярної ділянки хондромукоїда. Дегенеративні зміни хряща радіально прогресували від зони механічного контакту і у більшій мірі зазнавали пошкодження поверхневі шари гіалінового хряща (Рис.2.3.: 2). У глибоких шарах хряща реєстрували деструктивні зміни з ремоделюванням хондромукоїда і кісткової тканини з формуванням лакун. При цьому метафізарний хрящ залишався відносно збереженим, тобто дегенеративні зміни на застосованій моделі ОА обмежувались епіфізом кістки.

Дистрофічні процеси позначились у зміні товщини перифокального хряща. Так, середній показник у групі з ОА склав 530,1 [447,0-815,0] мкм, тоді як у контрольній групі 1133,7 [1110,0-1156,3] мкм, тобто у 2,1 рази менше ( $P < 0,05$ ). Значна редукція товщини хряща пов'язана з деструктивними

змінами хондромукоїда поверхневих шарів суглобової поверхні (підтверджено слабкою реакцією з альціановим синім на кислі глікозаміноглікани), загибеллю хондроцитів і появою на їх місці (тобто ізогенних груп) безклітинних лакун. Дистрофічні зміни хондроцитів у перифокальній зоні були меншими, ніж у ділянці дефекту. Характерним проявом прогресуючих дегенеративних змін були значна редукція хондроцитів над деструктивними змінами хондромукоїда (Рисунок 2.4:2). Аналіз щільності хондроцитів у тест-зонах хрящової поверхні довжиною 1000 мкм (на відстані до 2 мм від дефекту) показав їх редукцію у 2,6 рази ( $P < 0,05$ ). Характерним проявом прогресуючих дегенеративних змін були швидша редукція хондроцитів над деструктивними змінами хондромукоїда. Дистрофічні зміни суглобової поверхні прогресували також у глибоких шарах гіалінового хряща, що візуально реєстрували у зміні контуру хрящ-кістка. Дистрофія глибокого «зрілого» хряща викликала появу порожніх лакун, які у багатьох ділянках поєднувались з лакунами субхондральної кісткової тканини. На цьому структурному рівні також виявлено зміни, які полягали у зміні щільності трабекул кісткової тканини. У перифокальній зоні це пов'язано як з механічним пошкодженням, так і частковою резорбцією трабекулярної кістки. Якщо у контрольній групі відносна щільність кісткової тканини була на рівні 70,3 [68,8-72,6]%, то у групі з остеоартрозом 36,2 [24,8-52,9]%, тобто статистично значуща різниця склала 34,1% (майже на 98,1% менше фізіологічної,  $P < 0,05$ ).

Таким чином, на моделі локального посттравматичного ОА встановлено кілька важливих патофізіологічних складових розвитку структурних порушень у колінному суглобі.

По-перше, локальні дистрофічні зміни суглобового хряща радіально прогресують до прилеглих первинно неушкоджених ділянок гіалінового хряща. Ці зміни характеризуються загибеллю хондроцитів, що на цитологічному рівні виглядає як пікноз, а на їхньому місці залишаються безклітинні, порожні лакуни. Деструкція хондромукоїда спричиняє

збільшення обсягу цих лакун і, тим самим, сприяє редукції товщини всієї суглобової поверхні.

По-друге, дегенеративні зміни хряща позначаються на кістковій тканині епіфіза, а саме на втраті щільності, що пов'язано з поєднаною дією механічного та резорбційного чинника.

По-третє, пошкодження суглобового хряща стегнової кістки прогресувало на епіфіз великогомілкової кістки. Це, ймовірно, пов'язано з фіброзними змінами, які були виявлені у суглобовій порожнині, запаленням та порушеною біомеханікою.

Слід зазначити, що такі ділянки були локальними, не вражали всю суглобову поверхню, тому редукція хряща на епіфізі великогомілкової кістки була обмежена зонами деструкції гіалінового хряща, що також пов'язано з механічним пошкодженням при хірургічному втрачанні.

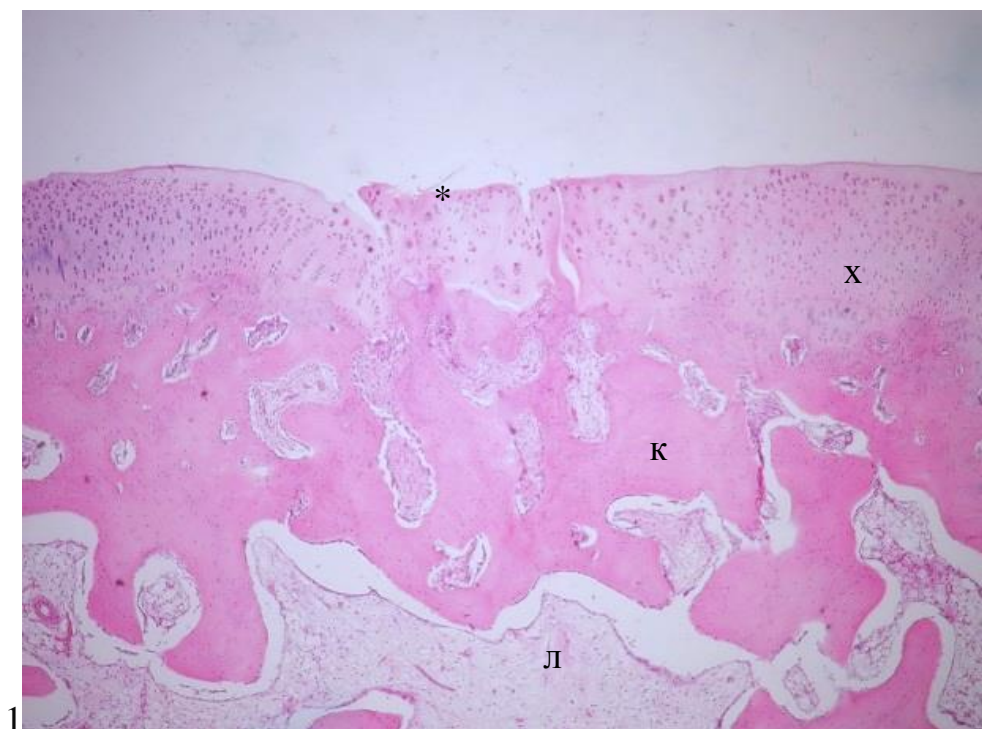
### **2.3. Результати впливу збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку на структурні зміни суглобового хряща у колінному суглобі з остеоартритом**

Незважаючи на деякі успіхи у дослідженнях патогенезу захворювання та артропластики колінного суглоба, досі не існує ефективного специфічного лікування ОА [43]. Існує гіпотеза, що локальне застосування аутологічних клітинних матеріалів, зокрема збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату аспірата червоного кісткового мозку, може сприяти відновленню травмованих структур або зменшити прогресуюче пошкодження в колінному суглобі. Клітинні концентрати розглядаються як умова для стимулювання відновних процесів в ушкодженій ділянці [44]. Однак ефективність цих підходів є неоднозначною, деякі автори повідомляють про відсутність відновного процесу в експериментальних умовах [45], а інші про зменшення больового синдрому при легкому та помірному ОА [46]. Більшість авторів погоджуються з їх безпечністю для використання та пропонують їх як самостійний спосіб лікування, так і у



комбінованій терапії [47]. Використання штучного хряща показало краще збереження хряща через 1 рік, у випадку додаткового введення збагаченої тромбоцитами плазми або концентрату аспірата кісткового мозку [48]. У власних дослідженнях ми припустили, що введення збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату аспірата червоного кісткового мозку може вплинути на перебіг розвитку дегенеративних змін суглобового хряща колінного суглоба при ОА. Тому у власних дослідженнях було проведено аналіз розвитку структурних змін суглобового хряща після ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку.

Як і в групі з ОА (група 2), у «терапевтичних» групах порівняння 3 і 4 виявлено дефекти суглобового хряща у епіфізі стегнової кістки. Середній діаметр дефектів становив 1576,9 [1422,3-2040,7] мкм і 1903,1 [1238,6-2686,7] мкм (табл. 1). Дефекти проілюстровано на рисунках 2.4 і 2.5. Статистично значущої різниці між групами порівняння з ОА не виявлено. Це свідчить про стандартизованість відтворення хрящового дефекту, що дозволило об'єктивно оцінити міжгрупові показники, та вказує на відсутність прогресуючого пошкодження після ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку.



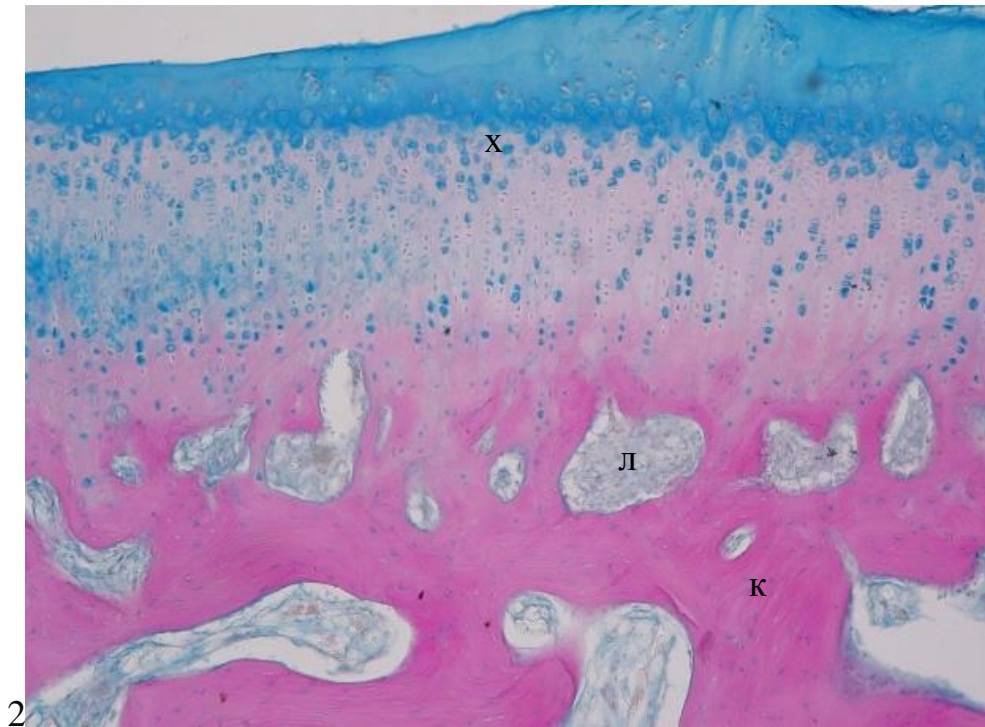
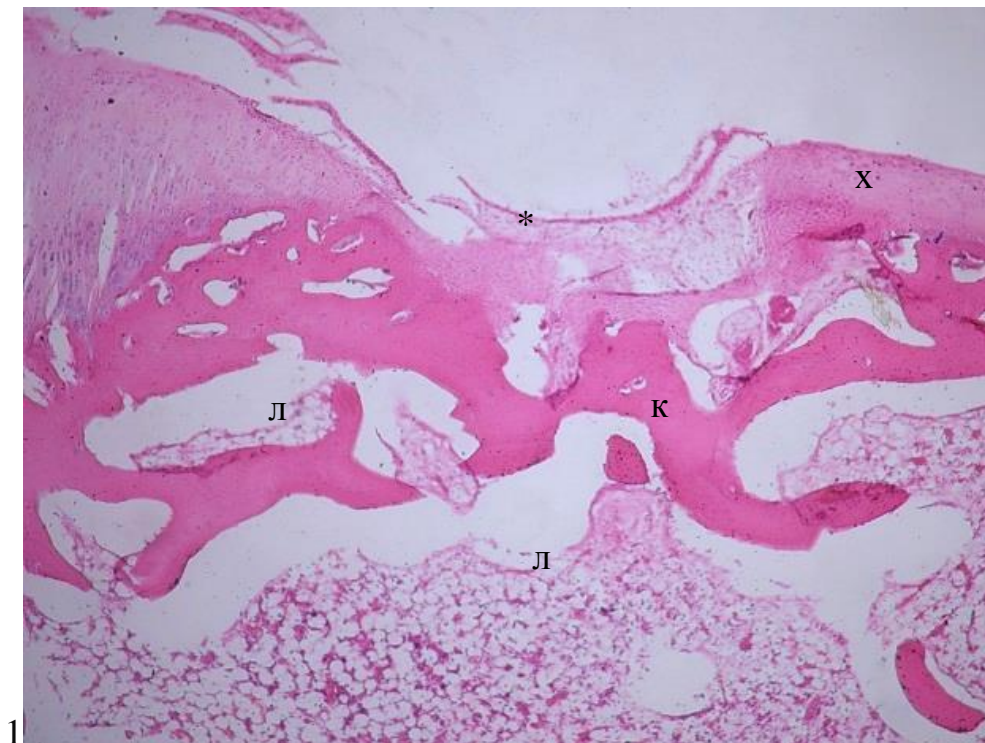


Рис. 2.4. Структурні зміни суглобової поверхні стегнової кістки кролів після моделювання остеоартриту та введення PRP/PRP. Менший ступінь пошкодження гіалінового хряща і більша щільність хондроцитів. Примітка: \* - дефект суглобового хряща; х – хрящ; к – кісткова тканина; л – лакуни субхондральної кістки. 1: гематоксилін-еозин, об. 4, ок. 10; 2: альціановий синій-пікрофуксин, об. 10, ок. 10.



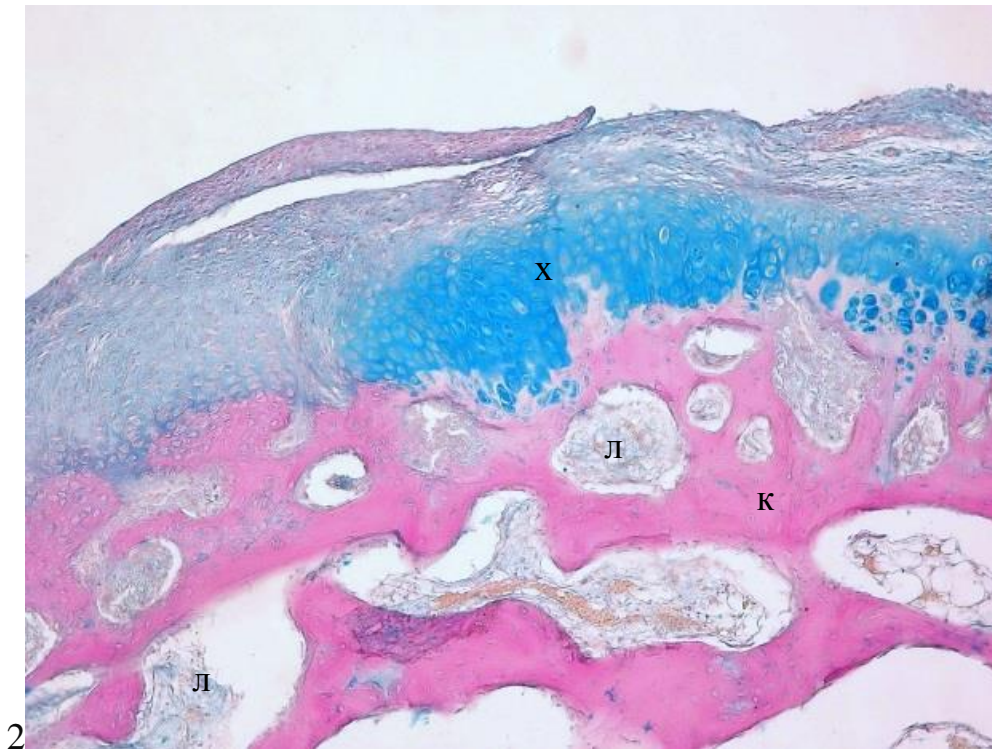


Рис. 2.5. Дистрофічні зміни суглобової поверхні стегнової кістки кролів після моделювання остеоартриту та введення ВМАС/PRP. Примітка: \* дефект суглобового хряща; х – хрящ; к – кісткова тканина; л – лакуни субхондральної кістки. 1: гематоксилін-еозин, об. 4, ок. 10; 2: альціановий синій-пікрофуксин, об. 10, ок. 10.

При дослідженні загальноморфологічних змін суглобового хряща було виявлено аналогічні зміни, які вже описано у групі 2. Так, встановлено загибель хондроцитів з формуванням порожніх лакун у гіаліновому хрящі. Деструкція поверхневих шарів хрящової поверхні (редукція щільності хондроцитів та лізис хондромукоїда) була більш вираженою порівняно з глибокими шарами хряща. Слід зазначити, що щільність збережених ізогенних груп була більшою порівняно з групою 2. Аналіз щільності хондроцитів у рандомно відібраних тест-зонах хрящової поверхні довжиною 1000 мкм показали міжгрупову різницю між групами 2 і групами 3 і 4. Результати морфометрії наведено у таблиці 2.2. Так, якщо у групі 2 відносна щільність хондроцитів була меншою від контрольних показників у 2,6 рази, то у групі 2 і 3 відповідно у 1,5 і 1,4 рази (менше на 51,3% та 42,7%,  $P < 0,05$ ).

Статистичний аналіз груп з остеоартрозом показав, що у групі 3 щільність хондроцитів була більшою від групи 2 на 43,6% ( $P < 0,05$ ), а у групі 4 – на 46,8% ( $P < 0,05$ ). Тобто дистрофічні зміни хондроцитів у перифокальній зоні суглобового хряща стегнової кістки були меншими після ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку. Це яскраво проілюстровано на рисунку 2.6

Таблиця 2.2. Середня щільність хондроцитів у перифокальному суглобовому хрящі стегнової кістки після моделювання остеоартриту (Me[Q1-Q3])

Група	Хондроцити / 1000 мкм
Група 1 – контроль	352,0 [315,0-386,0]
Група 2 – остеоартрит	131,0 [118,7-203,7]*
Група 3 – остеоартрит + PRP/PRP	232,5 [150,0-307,0]*#
Група 4 – остеоартрит + ВМАС/PRP	246,5 [209,0-300,2]*#

Примітка: \* - достовірно до групи 1 ( $P < 0,05$ ); # - достовірно до групи 2 ( $P < 0,05$ )

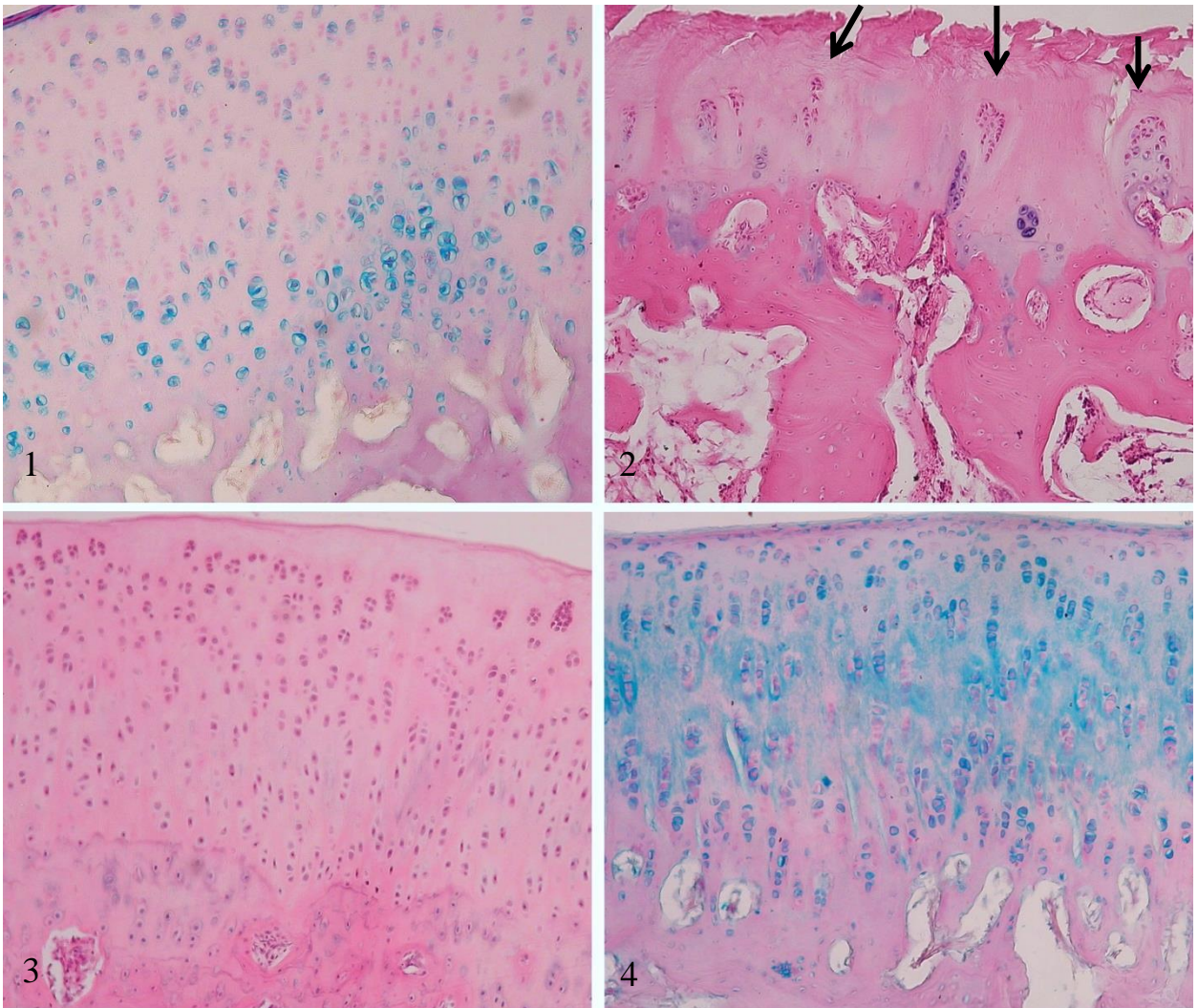


Рис. 2.6. Перифокальний суглобовий хрящ стегнової кістки кролів після моделювання остеоартриту. Щільність хондроцитів у групі 3 і 4 суттєво більша порівняно з групою 2. Примітка: 1 – контроль (група 1); 2 – група 2; 3 – група 3; 4 – група 4; ← деструкція хондромукоїда і локальні ізогенні групи хондроцитів. Альціановий синій-пікрофуксин (1,4), гематоксилін-еозин (2,3), об. 10, ок. 10.

Незважаючи на часткове збереження хондроцитів у гіаліновому хрящі, деструктивні зміни хондромукоїда поверхневих шарів і меншою мірою глибоких шарів суглобового хряща позначились у зміні товщини суглобової поверхні епіфіза стегнової кістки. У таблиці 2.3 наведено результати морфометричної оцінки перифокального суглобового хряща дослідних груп. За результатами рандомного вимірювання встановлено, що у груп 3 і 4

товщина суглобового хряща була статистично значимо меншою від контрольних значень на 58,7% і 91,7% ( $P < 0,05$ ). При цьому статистичної різниці між групами порівняння та з групою 2 не виявлено (різниця у межах статистичної похибки, тобто  $P > 0,05$ ).

Таблиця 2.3. Результати морфометричної оцінки перифокальної ділянки епіфіза стегнової кістки після моделювання остеоартриту (Me[Q1-Q3])

Група	Товщина перифокального епіфізарного хряща, мкм	Відносна щільність субхондральної кісткової тканини, %
Група 1 – контроль	1133,7 1110,0-1156,3]	70,3 [68,8-72,6]
Група 2 – остеоартрит	530,1 447,0-815,0]*	36,2 [24,8-52,9]*
Група 3 – остеоартрит + PRP/PRP	714,2 [473,8-973,2]*	57,7 [37,6-78,4]*
Група 4 – остеоартрит + ВМАС/PRP	591,3 [429,5-816,5]*	50,1 [35,8-56,0]*

Примітка: \* - достовірно до контрольної групи ( $P < 0,05$ ); # - достовірно до групи 1 ( $P < 0,05$ )

Аналіз структурних змін субхондральної кістки також засвідчив деструкційні зміни та резорбцію трабекулярної кістки у перифокальній зоні. Слід зазначити, що відносна щільність кісткової тканини у групах 3 і 4 візуально була більшою порівняно з групою 2 (57,7% і 50,1% проти 36,2%,  $P > 0,05$ ). Проте за результатами статистичного аналізу відмічено лише тенденцію до пригнічення розвитку деструктивних змін у субхондральній ділянці. Одержані результати морфометричного та статистичного досліджень підтвердили гістологічні зміни суглобової поверхні та уточнили особливості прогресуючого пошкодження структурних утворень колінного суглоба. Зроблено заключення про особливості дистрофічних змін, які домінують у поверхневих шарах гіалінового хряща, при цьому дистрофія хондроцитів, їх

загибель і редукція у клітинних лакунах швидша за дистрофічні зміни хондромукоїду. Тому у пошкодженому хрящі можуть залишатись безклітинні ділянки частково збереженого позаклітинного матриксу, проте відновні процеси у таких структурних утвореннях є малоімовірними, а дегенеративні зміни будуть прогресувати. Крім того, пошкодження хряща на виростках стегнової кістки не обмежилось ділянкою механічної деструкції і позначилось на морфології епіфіза великогомілкової кістки. Ці зміни були значно менш вираженими, але також були виявлені фокальні ділянки дегенеративних змін і редукція товщини суглобового хряща. Якщо перше може бути пов'язано з механічним пошкодженням хряща під час моделювання остеоартриту (табл. 2.4.), то друге є наслідком прогресуючого пошкодження, оскільки редукція клітинного складу та хондромукоїда відбувалась саме з поверхневих шарів гіалінового хряща. А у ділянках, які топографічно були пов'язані з субхондральною кістковою тканиною встановлено зменшення відносної її щільності (табл. 2.5.).

Таблиця 2.4. Діаметр вторинних осередків пошкодження у епіфізі великогомілкової кістки після моделювання остеоартриту (Me[Q1-Q3])

Група	Зона дефекту, мкм
Група 1 – контроль	-
Група 2 – остеоартрит	2279,8 [1987,8-3087,3]
Група 3 – остеоартрит + PRP/PRP	2443,2 [1764,8-3206,6]
Група 4 – остеоартрит + ВМАС/PRP	2153,6 [1985,9-3361]

Результати статистичного аналізу не показали статистично значущої різниці щільності субхондральної трабекулярної кістки між групами порівняння з ОА. При цьому аналіз товщини епіфізарного хряща великогомілкової кістки показав достовірно більшу товщину у групі 4 щодо групи 2 на 23,1% ( $P < 0,05$ ), що вказує на часткове запобігання прогресуючих

дегенеративних змін суглобового хряща. Різниця значень між групою 3 і 4 була у межах статистичної похибки.

Таблиця 2.5 Редукція перифокальної ділянки епіфіза великогомілкової кістки після моделювання остеоартриту (Me[Q1-Q3])

Кістка	Товщина перифокального епіфізарного хряща, мкм	Відносна щільність субхондральної кісткової тканини, %
Група 1 – контроль	1524,7 [1061,1-1531,6]	53,2 [51,2-55,2]
Група 2 – остеоартрит	778,9 [613,9-951,8]*	29,6 [23,9-36,1]*
Група 3 – остеоартрит + PRP/PRP	1179,9 [680,9-1439,8]*	30,7 [25,6-35,1]*
Група 4 – остеоартрит + ВМАС/PRP	1012,8 [820,8-1188,2]*#	31,6 [29,8-36,3]*

Примітка: \* - достовірно групи 1 ( $P < 0,05$ ); # - достовірно до групи 2 ( $P < 0,05$ )

### Заключення до розділу

В експериментах ми досліджували структурні зміни суглобової поверхні хряща після моделювання ОА за допомогою гістологічних та морфометричних методів. Кроликам виконували стандартне моделювання ОА шляхом формування хрящового дефекту, пересічення передньої схрещеної зв'язки та резекції медіального меніска. Через 28 днів внутрішньосуглобово вводили 0,9 % NaCl або збагачену тромбоцитами плазму або концентрат аспірата кісткового мозку, через 14 днів дослідним групам внутрішньосуглобово вводили 0,9 % NaCl або збагачену тромбоцитами плазму. Через 2 місяці проведено гістологічне та морфометричне дослідження епіфізарної поверхні стегнової та великогомілкової кісток. Як було описано, на морфологічному рівні зона дефекту не обмежувалась лише суглобовим хрящем і порушення зачепили субхондральну частину епіфіза кістки. Порушення гіалінового хряща полягали у загибелі хондроцитів, редукції їх кількості у хрящі, в результаті



чого реєстрували порожні (безклітинні) лакуни, а також деструктивні зміни хондромукоїда також позначились на пошкодженні та товщині суглобової поверхні. Ми вважаємо, що першочергово це відбувалось у поверхневих шарах хряща, а далі, по мірі переходу пошкодження у субхондральну кісткову тканину, відбувалась резорбція кістки і глибоких шарів хряща. Так, виявлено зміну контуру хрящ/кісткова тканина у бік суглобової поверхні, порожні лакуни у хрящі з макрофагами. Подібні зміни зазначали раніше [49], Midwood K. S. виявив нерегулярність поверхні з 2 тижня, а критичну дегенерацію хряща з 4 тижня після моделювання ОА (тріщини, втрата матриксу хряща, редукція товщини). Зрозуміло, що втрата хондроцитів різко зменшує потенціал до відновлення хряща, тому підтримка хрящової тканини може потенційно вплинути на перебіг дегенеративних процесів. Нажаль, у власних експериментах ми не виявили статистично значущої різниці у групі зі збагаченою тромбоцитами плазмою, дистрофічні зміни продовжувались як у групі з ОА, хоча тенденція збереження хряща була відмічена (нерегулярна деформація поєднувалась з ділянками відносно збереженого хондромукоїду). Було встановлено часткове збереження кількості хондроцитів, що реєстрували у достовірно більшій щільності ізогенних груп у гіаліновому хрящі, але це не позначилось на збереженні всієї товщини суглобового хряща. Дегенеративні зміни прогресували і у перифокальних ділянках і навіть поверхневих шарах хряща великогомілкової кістки виявлено редукцію хондроцитів і деструктивні зміни хондромукоїду. У групі з концентратом аспірата кісткового мозку товщина хрящової поверхні виявились достовірно більшою тільки на епіфізі великогомілкової кістки, але морфологічні зміни у субхондральній кістці очевидно мали аналогічний перебіг, як у групі без введення досліджуваних засобів або ін'єкції із збагаченої тромбоцитами плазми. У групі з використанням концентрату аспірата кісткового мозку встановлено більшу товщину гіалінового хряща великогомілкової кістки на 23,1% ( $P < 0,05$ ) порівняно до групи з 0,9 % NaCl та групи з подвійним використанням збагаченої тромбоцитами плазми. Редукція щільності

кісткової тканини поєднувалась з втратою кісткового мозку, хоча у 2-х зразках з PRP/PRP і ВМАС/PRP відмічено відносне збереження ретикулярної тканини кісткового мозку та появу новоутворених судин, що є свідченням трофічного впливу. При цьому відносна щільність субхондральної кісткової тканини у групах порівняння з ОА не мала відмінностей. Статистичний аналіз груп з остеоартрозом показав, що у групі 3 щільність хондроцитів була більшою від групи 2 на 43,6% ( $P < 0,05$ ), а у групі 4 – на 46,8% ( $P < 0,05$ ). Тобто дистрофічні зміни хондроцитів у перифокальній зоні суглобового хряща стегнової кістки були меншими після ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку.

Аналіз структурних змін субхондральної кістки також засвідчив деструкційні зміни та резорбцію трабекулярної кістки у перифокальній зоні. Слід зазначити, що відносна щільність кісткової тканини у групах 3 і 4 візуально була більшою порівняно з групою 2 (57,7% і 50,1% проти 36,2%,  $P > 0,05$ ).

## РОЗДІЛ 3

### РОЗРОБКА ТА АНАЛІЗ МЕТОДИКИ ОТРИМАННЯ PRP та L-PRP ДЛЯ КЛІНІЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ

#### 3.1 Філософія отримання збагаченої тромбоцитами плазми для клінічного використання: роль концентрації тромбоцитів та лейкоцитів

Збагачена тромбоцитами плазма (*PRP* - Platelet Rich Plasma) – аутологічний продукт отриманий з крові пацієнта шляхом центрифугування, мембранної сепарації чи буферного розподілу, головною ознакою якого є концентрація тромбоцитів вище за фізіологічну. Тромбоцити являють собою цитоплазматичні без'ядерні тіла неправильної форми, що утворилися від фрагментації мегакаріоцитів. Вони циркулюють у крові і відіграють ключову роль у гемостазі та загоєнні ран шляхом утворення фібринових згустків [50]. Тромбоцити функціонують як природний резервуар для факторів росту, включаючи тромбоцитарний фактор росту (PDGF), епідермальний фактор росту (EGF), трансформуючий фактор росту  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), фактор росту фібробластів (FGF), фактор росту гепатоцитів (HGF), інсуліноподібний фактор росту (IGF-I) та інші [51]. Такі фактори росту вивільняються з альфа-гранул активованих тромбоцитів і беруть участь у важливих клітинних процесах, включаючи мітогенез, хемотаксис, диференціювання та метаболізм.

Отже, обґрунтування збільшення концентрації тромбоцитів у скомпроментованій (або пошкодженій) тканині полягає у переконанні, що додаткові тромбоцити призведуть до експоненціального вивільнення множинних біоактивних факторів, а згодом посилять природний процес загоєння.

Багато клінічних досліджень продемонстрували ефективність PRP-терапії в стоматології, комбустіології, щелепно-лицевій, пластичній та ортопедичній хірургії. Аутологічні продукти крові вперше були

популяризовані в 1990-х роках у щелепно-лицевій та пластичній хірургії. [52,53]. Незважаючи на все більшу кількість доказів PRP як засобу природного зцілення, його клінічна ефективність у лікуванні травм та захворювань опорно-рухового апарату все ще залишається предметом дискусій.

Основним обмеженням для оцінки клінічних ефектів від PRP є відсутність уніфікованих протоколів отримання та використання збагаченої тромбоцитами плазми. Доступно багато різних комерційних систем, які використовують різні центрифуги та протоколи центрифугування. Концентрації тромбоцитів та лейкоцитів, а відповідно й факторів росту можуть змінюватися залежно від системи, що використовується [54].

Одним з найважливіших компонентів, що впливає на препарати PRP, є наявність або відсутність лейкоцитів (нейтрофілів, моноцитів, макрофагів та лімфоцитів). Лейкоцити є частиною імунної системи організму. Всі вони здатні до виходу за межі кров'яного русла в тканини. Головна функція лейкоцитів — захист. Вони беруть участь в імунних реакціях. Виділяють при цьому Т-клітини, які розпізнають віруси та різноманітні шкідливі речовини та В-клітини, що виробляють антитіла, макрофаги, які знищують ці речовини. Збагачена тромбоцитами плазма, в якій крім тромбоцитів вище базового рівня, наявні ще лейкоцити в значній концентрації, називається L-PRP. Їх підвищена концентрація може бути корисною, оскільки вони стимулюють імунну відповідь проти інфекцій [55]; сприяють хемотаксису, проліферації та диференціації клітин; індукують продукцію позаклітинного матриксу та ангиогенез [56]. Завдяки цим властивостям лейкоцити, що містить L-PRP, часто використовуються для лікування травматичних ушкоджень. Однак лейкоцити також вивільняють запальні цитокіни - наприклад, інтерлейкін-1-бета ( $IL-1\beta$ ) та фактор некрозу пухлини-альфа ( $TNF-\alpha$ ) - та активні форми кисню, що може мати згубний вплив на тканини [57].

L-PRP викликає переважно катаболічні та запальні зміни в клітинах: збільшення експресії генів катаболічних маркерів, матричної металопротеїнази-1 (*MMP-1*), *MMP-13*, інтерлейкіну-1-бета (*IL-1 $\beta$* ), *IL-6* та фактора некрозу пухлини-альфа (*ФНП- $\alpha$* ) та їх відповідної експресії білка та утворення простагландину  $E_2$  (*PGE\_2*). На противагу цьому, PRP в основному викликає анаболічні зміни: збільшує експресію анаболічних генів, альфа-гладком'язових актинів ( *$\alpha$ -SMA*), колагенів типу I та III. Це вказує на те, що хоча L-PRP і PRP видаються «безпечними», проте використання L-PRP може бути шкідливим для загоєння, оскільки викликає катаболічний та запальний вплив на клітини і може подовжити ефект загоєння. З іншого боку, коли PRP використовується для лікування гостро пошкоджених тканин, це може призвести до утворення надмірної рубцевої тканини через сильний потенціал PRP викликати клітинні анаболічні ефекти[58].

Все вище сказане спонукає до диференційного підходу при використанні збагаченої тромбоцитами плазми в залежності від концентрації лейкоцитів в ній. На сьогодні брендові системи виготовлення та використання збагаченої тромбоцитами плазми з однієї сторони забезпечують бурхливе проведення наукових досліджень та популяризацію регенеративної медицини, а з іншої несуть значне збільшення вартості лікування за рахунок витрат на бізнес-процес. Якщо знехтувати маркетинговими особливостями брендів наборів для виготовлення збагаченої тромбоцитами плазми, то для практикуючого лікаря більш важливим є клітинний склад збагаченої тромбоцитами плазми, безпечність і простота отримання біологічного продукту. З чого і випливає мета нашої роботи.

### **3.2 Методологія дослідження**

В період з серпня 2020 по січень 2021 р. в 27 здорових добровольців проводився забір трьох зразків крові з кубітальної вени (5 мл, 20 мл та 20 мл), які в подальшому оброблялись, а отримані біологічні продукти

вивчались. Гендерний розподіл: чоловіки 55.5%, жінки 44.5 %. Середній вік добровольців 34 роки. З метою попередження згортання крові та її продуктів використовували цитрат декстрази (ACD–A, MascoPharma, France) в співвідношенні 1:8. Гемоконсервант використовували з метою попередження згортання зразків до моменту їхнього дослідження на гематологічному аналізаторі, адже від забору крові до аналізу проходило близько 30хв. В клінічній роботі немає необхідності використовувати антикоагулянти чи гемоконсерванти, адже час від забору крові до початку центрифугування і в подальшому до введення в таргетну ділянку надто малий для тромбоутворення. В зв'язку з використанням такої кількості цитрату декстрази, варто зазначити, що клітинний склад дослідних зразків буде менший порівняно з клінічним біологічним матеріалом на 12.5% за рахунок розведення.

Перший зразок крові (5 мл) не оброблявся і був контрольним для визначення показників цільної крові. Обидва дослідні зразки крові обробляли на 0.6 G протягом 8 хв центрифугою Elmi SM-6M (Латвія). Принципова різниця полягала в тому, що другий зразок центрифугували в стерильній пластиковій пробірці і забір плазми був ручним, третій зразок центрифугували в стерильному закритому поршні шприца і забір плазми проводився закрито за допомогою системи конекторів з захопленням лейкоцитарного шару. Перед початком центрифугування зразки зважувались для максимальної симетричності пробірки та контрпробірки і мінімізації вібрацій. Важливо щоб пробірки були пластикові і загалом не було контакту крові з скляними поверхнями, оскільки діоксин кремнію здатний запускати каскад тромбоутворення.

Таким чином отримані від кожного добровольця по 1 зразку крові та 2 плазми багаті тромбоцитами вивчали за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора XP 300 Sysmex Corporation. Каскад отриманих даних проаналізовано за допомогою SPSS Statistics.

### Перший зразок (контрольний)



5 мл крові з цитратом  
декстрази в  
співвідношенні 1:8



Рис. 3.1. Забір венозної крові в добровольців та опрацювання зразків на гематологічному аналізаторі для визначення контрольних показників концентрації еритроцитів та лейкоцитів.

### Другий зразок PRP



20 мл крові з цитратом  
декстрази в  
співвідношенні 1:8



Стерильна  
пластиковіа пробірка  
на 50 мл типу Falcon

0.6 G 8хв



Ручний забір  
3.5 мл PRP  
максимально  
близько до  
Buffy coat

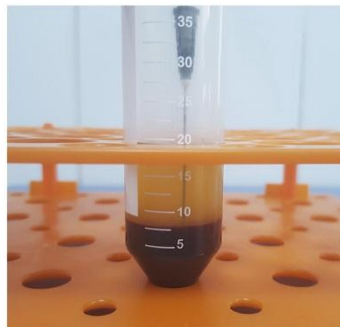


Рис. 3.2. Забір венозної крові в добровольців, центрифугування в пробірці типу Falcon, відкритий ручний забір багатого шару та опрацювання зразків на гематологічному аналізаторі для визначення показників концентрації еритроцитів та лейкоцитів.



Рис. 3.3. Забір венозної крові в добровольців, центрифугування в стандартному шприці, закритий забір багатого шару та опрацювання зразків на гематологічному аналізаторі для визначення показників концентрації еритроцитів та лейкоцитів.



### 3.3 Отримані результати та їх інтерпретація

Були отримані наступні середні показники: Перший зразок (контрольний) - концентрація тромбоцитів  $228,69 (+39,15) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $5,18 (+1,32) \cdot 10^9/\text{л}$ ; другий зразок (пробірка + ручний забір) - концентрація тромбоцитів  $429,38 (+79,92) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $0,85 (+0,34) \cdot 10^9/\text{л}$ ; третій зразок (поршень шприца + закритий вакуумний забір) - концентрація тромбоцитів  $541,15 (+85,49) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $6,56 (+1,92) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $P < 0.05$ ). Дані наведені без урахування  $-12.5\%$  відхилення на розведення цитратом декстрази.

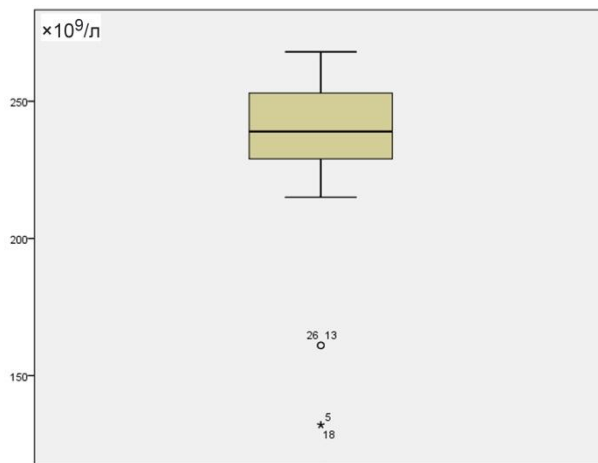


Рис. 3.4. Концентрація тромбоцитів в зразок №1 (контрольний)

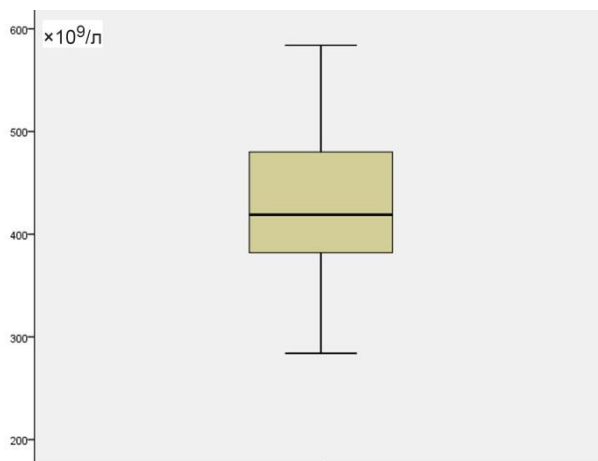


Рис. 3.5. Концентрація тромбоцитів в зразок №2

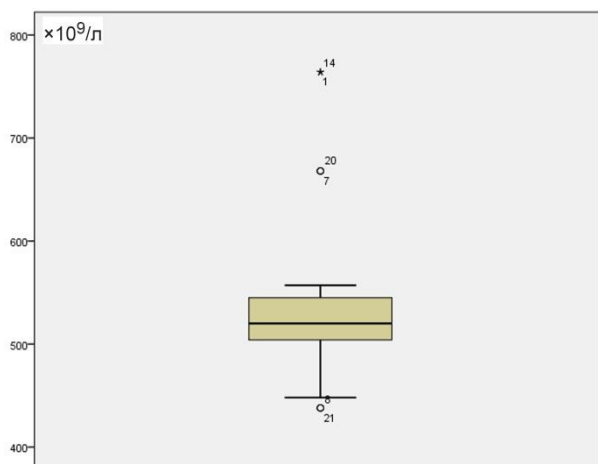


Рис. 3.6. Концентрація тромбоцитів в зразок №3

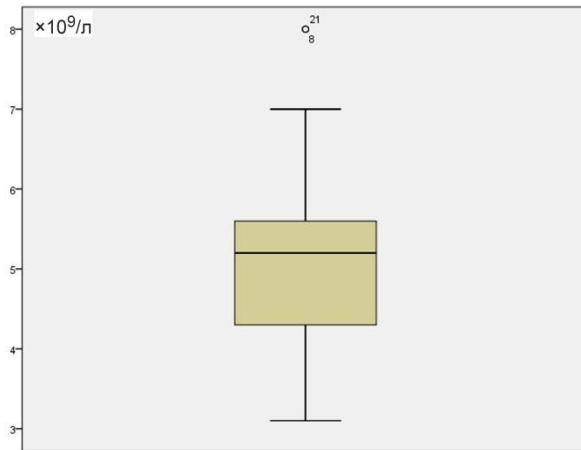


Рис. 3.7. Концентрація лейкоцитів в зразок №1 (контрольний)

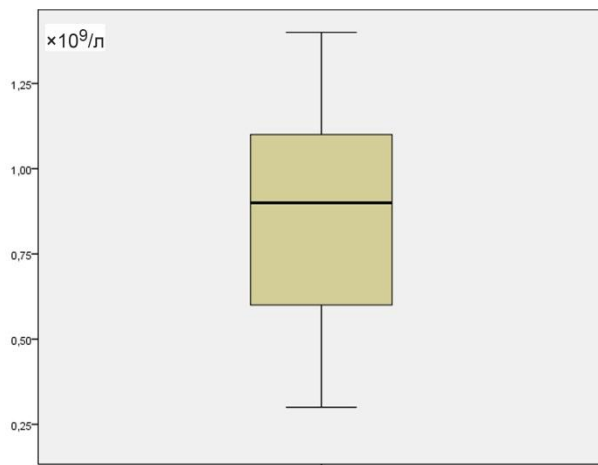


Рис. 3.8. Концентрація лейкоцитів в зразок №2.

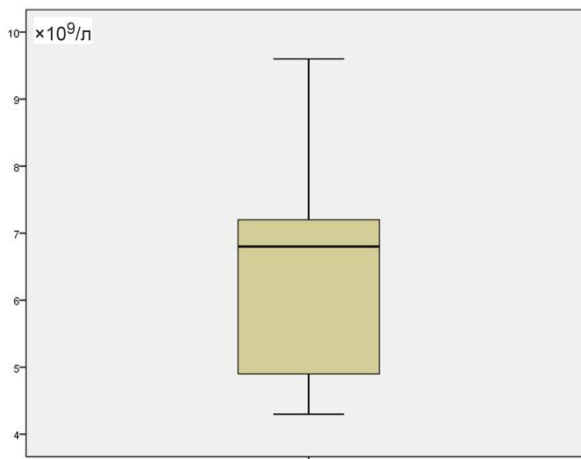


Рис. 3.9. Концентрація лейкоцитів в зразок №3.

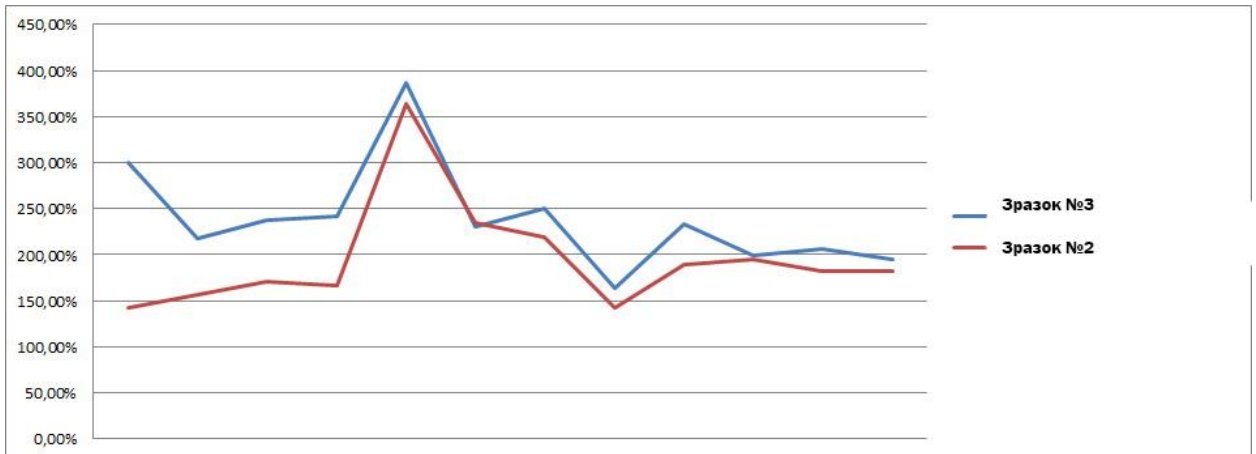


Рис.3.10. Концентрація тромбоцитів у відсотковому співвідношенні порівняно з контрольним зразком.

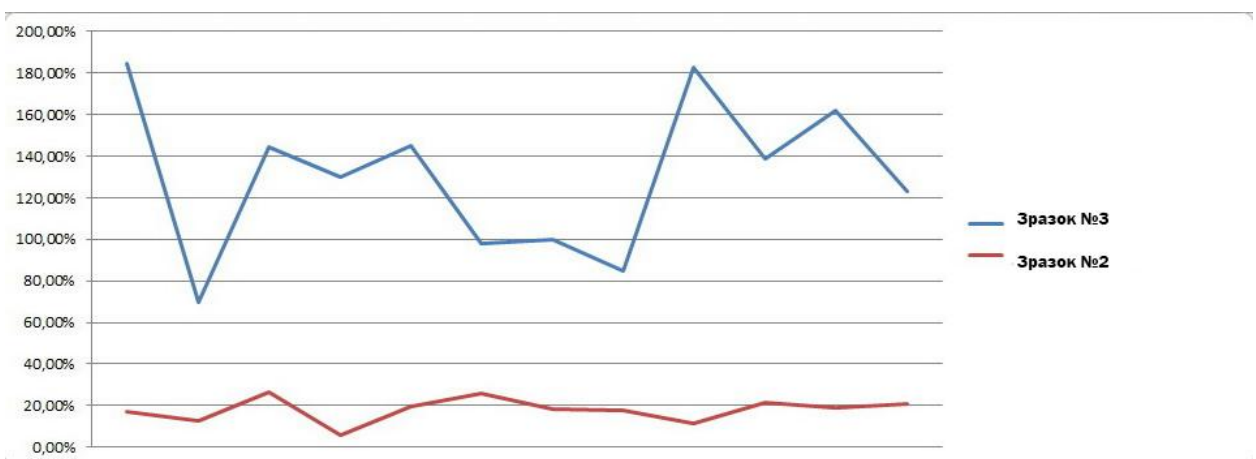


Рис.3.11. Концентрація лейкоцитів у відсотковому співвідношенні порівняно з контрольним зразком.

Таким чином, розроблені некомерційні прості два способи обробки крові для отримання PRP чи L-PRP. Досліджені концентрації тромбоцитів та лейкоцитів, що може бути використаним в клінічній практиці в залежності від поставлених задач. Важливим є вивчення диференційного підходу до використання PRP чи L-PRP.

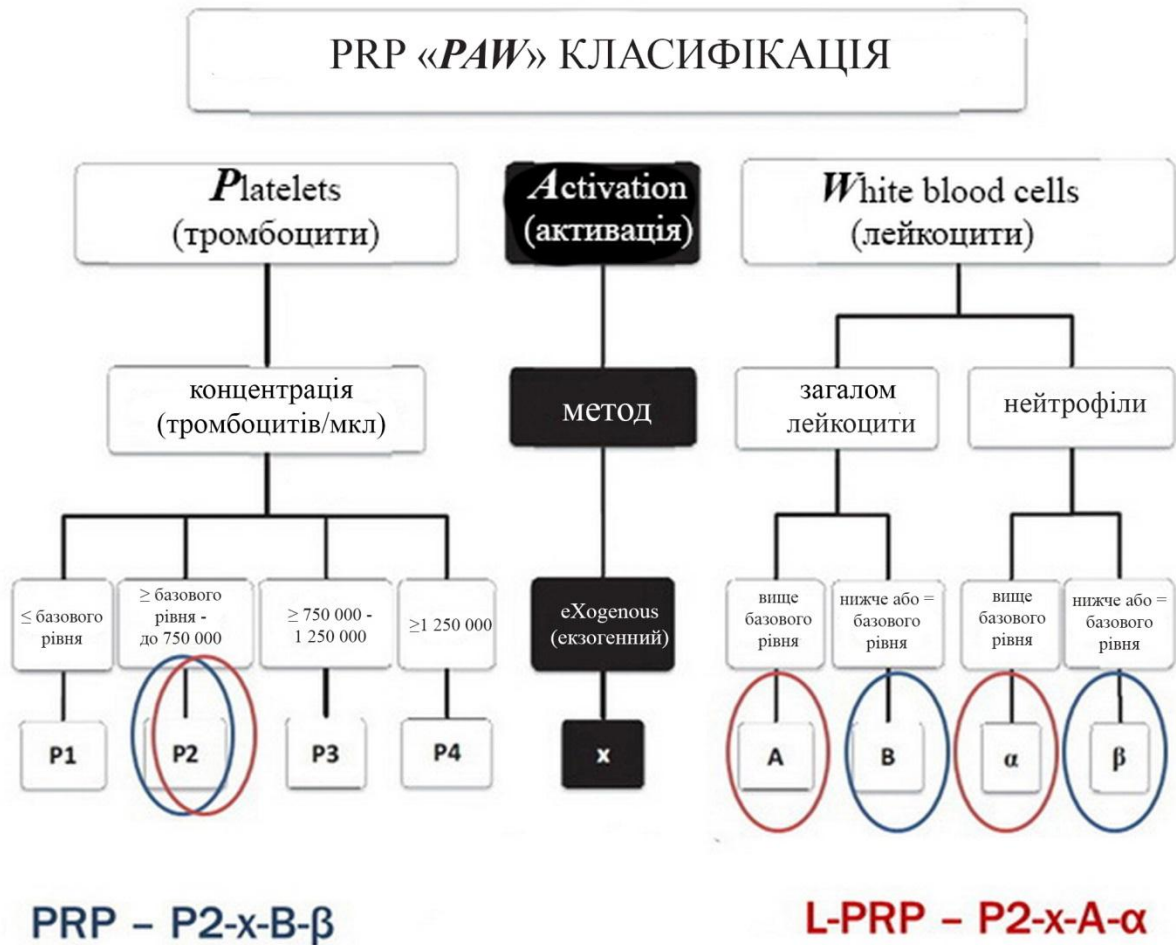


Рис.3.12. Отримані біологічні матеріали відповідно до Platelet-rich plasma: the PAW classification system [59].

Представлений закритий спосіб центрифугування передбачає ряд переваг, проте є й недолік - ін'єкційні шприци 20 мл, які використовувались, не призначені для виготовлення PRP та ВМАС, і потребують кустарної модифікації, що має місце в експерименті проте не припустимо для клінічного використання. Тому нами розроблено спеціальний шприц-пробірку на 50 мл, яка дозволить оптимізувати процес виготовлення PRP та ВМАС для клінічного використання (Рис.3.13. та Рис.3.14).

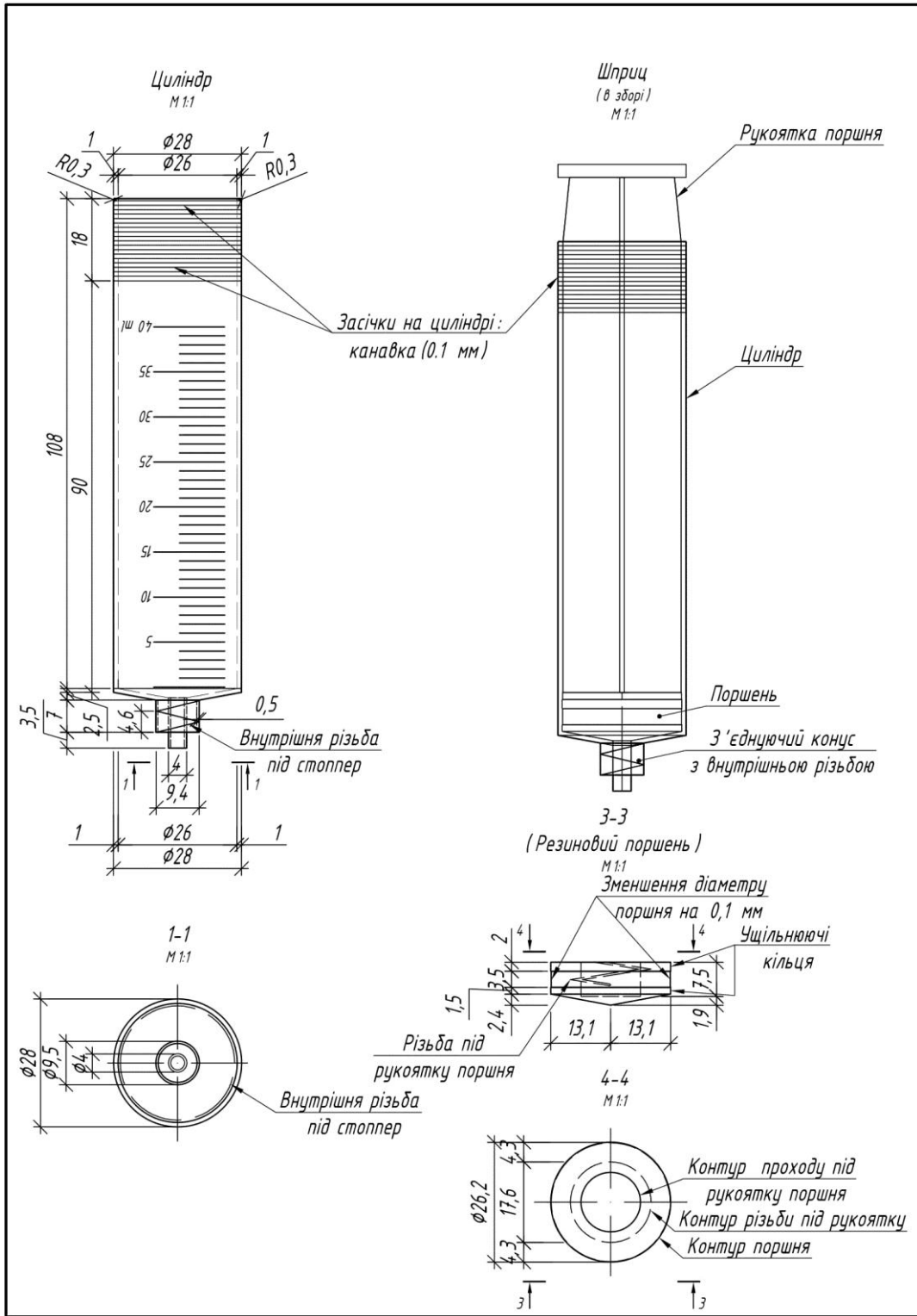


Рис.3.13

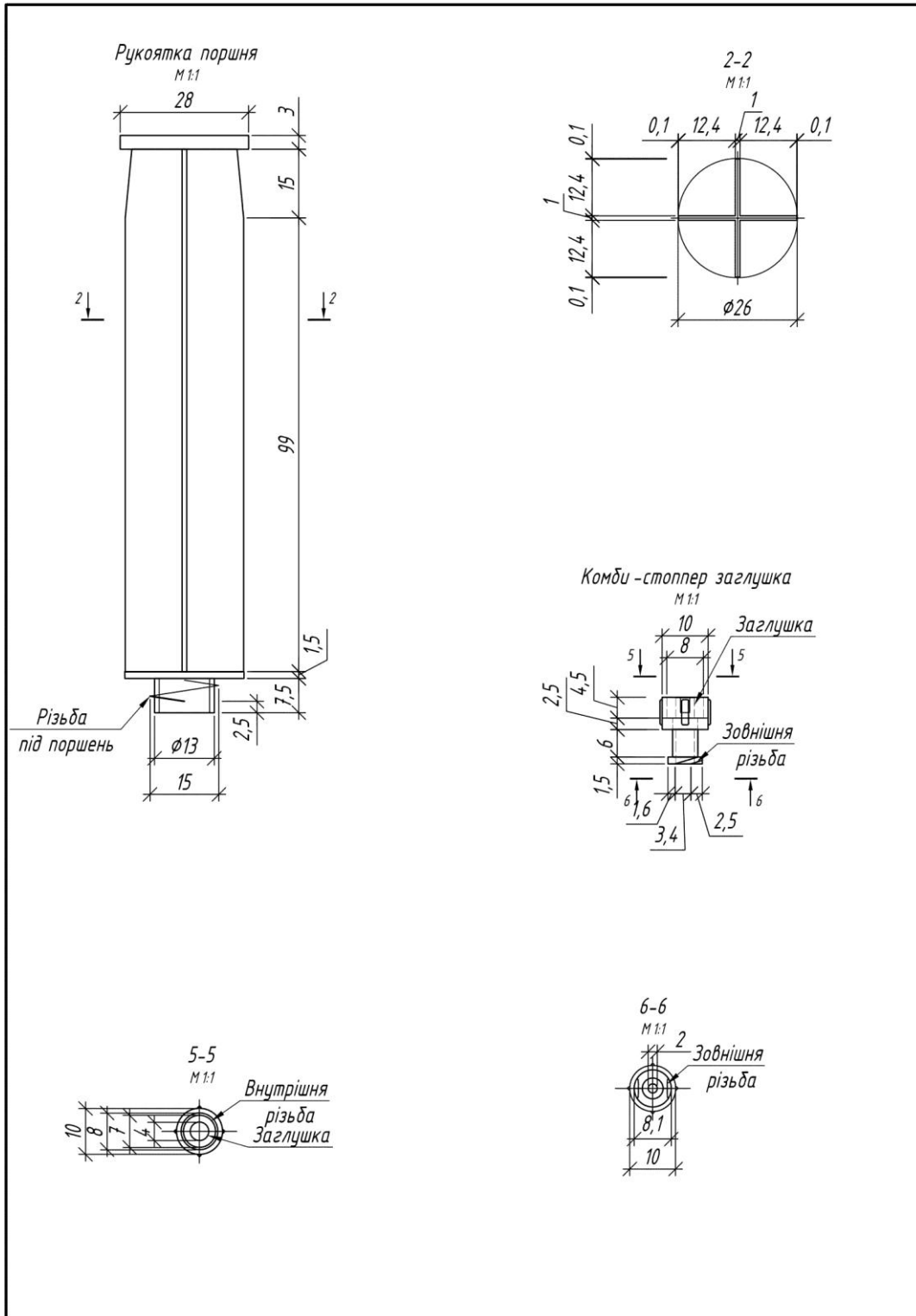


Рис.3.14

Розроблений шприц-пробірка дозволяє в закритий спосіб центрифугувати кров та червоний кістковий мозок, що має ряд переваг:

- відсутній контакт з атмосферою, відповідно відсутні ризики контамінації;
- скорочення часу обробки біологічного матеріалу, адже не потрібно переносити з шприца в пробірку, з пробірки в шприц;
- можливість максимально забирати багатий клітинний шар. Якщо мова йде про PRP – забираються також лейкоцити, якщо мова про ВМАС – забираються також ядерні нейтрофіли серед яких МСК.

Конструкційні особливості:

- 1) Ущільнююча манжета поршня і шток мають різьбове з'єднання і можуть легко відокремлюватися;
- 2) Фланець відсутній, його функцію виконують ребристі насічки на поршні. Завдяки цьому шприц-пробірку можна без перепон поміщати в центрифугу;
- 3) В конструкції використовується з'єднання Luer Lock та оригінальний стопер, що попереджає витікання біологічного матеріалу під час центрифугування.

## РОЗДІЛ 4

### РОЗРОБКА ТА ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДИКИ ВИКОРИСТАННЯ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ ТА КОНЦЕНТРАТУ ЧЕРВОНОГО КІСТКОВОГО МОЗКУ В КЛІНІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

#### 4.1. Еволюція вивчення і сучасна концепція мезенхімальних стовбурових клітин

Фактори росту, що виділяються тромбоцитами, можуть сприяти регенерації тканин шляхом стимуляції попередників, моделювання місцевих запальних реакцій та сприяння ангиогенезу [60]. Таким чином, можна вважати доцільним використання збагаченої тромбоцитами плазми, для прискорення загоєння [61]. PRP являє собою широкий спектр препаратів, що містять змінні концентрації тромбоцитів, лейкоцитів та еритроцитів, більше 300 окремих цитокінів та факторів росту [62]. Детально процес виготовлення PRP описаний в розділі №3. Залишається тільки додати, що при клінічному використанні опція додавання гемоконсерванту цитрату декстрази є факультативною. При дотриманні обмежень по харчуванню та злагодженому логістичному процесі, від забору крові до введення збагаченої тромбоцитами плазми, немає необхідності використовувати антикоагулянти чи гемоконсерванти. Якщо все ж таки є необхідність у попередженні згортання крові, варто віддавати перевагу цитрату декстрази або цитрату натрію. Описаний цитотоксичний вплив сполук гепарину на тромбоцити. Ми в своїй клінічній роботі не використовували активатори тромбоцитів. Вплив активаторів (таких як кальцію хлорид 100мг/мл) полягає в одномоментному руйнуванні клітинних мембран та дегрануляції органел. Як наслідок при використанні активаторів – в таргетну зону вводяться не тромбоцити, а тромболізат, що може провокувати «штормоподібні» запальні реакції. Не використовуючи активатори, в таргетну ділянку вводяться в більшості своїй цілі тромбоцити, які поступово дегранулюються за рахунок ендogenous кальцію.



J. C. Lee та співавт. [63] провели експеримент на кроликах, змодельовавши хрящові дефекти у блоковидній ділянці стегна тварини. Тварини були розділені на 3 групи: ті, що не отримували лікування, PRP група та ті, що отримували суміш мезенхімальних клітин та PRP. В обох досліджуваних групах дефекти заповнювалися гіаліноподібним регенератом. Однак, спостерігалось неповне кісткове відновлення та нерівна інтеграція поверхні хряща в PRP групі.

MSCs (MCK) - мезенхімальні стовбурові клітини - це дорослі стовбурові клітини, здатні стати в умовах *in vitro* спеціалізованими кістково-м'язовими клітинами, модулювати імунні реакції та вивільняти трофічні цитокіни, що робить їх привабливими регенеративними субстратами [64]. Термін MSC був використаний для опису множинних гетерогенних типів клітин, виділених за допомогою різних методів з різних джерел, включаючи кістковий мозок, жирову тканину та інші. В літературі вони отримали декілька назв, таких як мультипотентні дорослі клітини-попередники, ізольовані мультилінійні індуковані клітини та мультипотентні дорослі стовбурові клітини, медичні сигнальні клітини.

У 1924 р. морфолог Олександр Олександрович Максимов використовував великі гістологічні дані, щоб ідентифікувати один тип клітини-попередника в мезенхімі, яка розвивається в різні типи клітин крові [65].

Вчені Ernest A. McCulloch and James E. Till вперше розкрили клональну природу клітин кісткового мозку в 1960-х роках [66,67]. Пізніше в 1970-х рр. Фріденштейн та його колеги повідомили про аналіз *ex vivo* для дослідження клоногенного потенціалу мультипотентних клітин кісткового мозку. У цій системі аналізу стромальні клітини називали колонієутворюючими одиницями фібробластів (КУОф) [68,69].

Перші клінічні випробування MSC були завершені в 1995 р., коли групі з 15 пацієнтів ввели культивовані MSC для перевірки безпеки лікування. З того часу і до 2011 р. було розпочато понад 200 клінічних випробувань [70].

Подальші експерименти показали пластичність клітин кісткового мозку і те, як їх доля визначається факторами навколишнього середовища. Культивування MSC кісткового мозку в присутності остеогенних стимулів, таких як аскорбінова кислота, неорганічний фосфат і дексаметазон, може сприяти їх диференціації в остеобласти. При додаванні бета-трансформуючого фактора росту (TGF- $\beta$ ) можна індукувати хондрогенний шлях диференціації.

Для уникнення плутанини в термінології ми в своїй роботі намагались користуватись аббревіатурою MSCs (МСК) маючи на увазі, що два терміни Мезенхімальні Стовбурові Клітини та Медичні Сигнальні Клітини – є правильними і синонімами, позначають одні й ті ж клітини, відмінності тільки в філософії. Робили це свідомо посилаючись на думку одного з основоположників регенеративної медицини Arnold Caplan, який в 1991 р. вперше використав термін Мезенхімальні Стовбурові Клітини, а в 2010 р. - Медичні Сигнальні Клітини. Оскільки основна функція *in vivo* MSC [71] не є мультипотентність і, таким чином, не є стовбуровою клітиною в класичному розумінні [72-74], він пропонує використовувати термін медичні сигнальні клітини. Прецедент зміни медичних термінів не новий.

#### Історія та хронологія номенклатури мезенхімальних стовбурових клітин

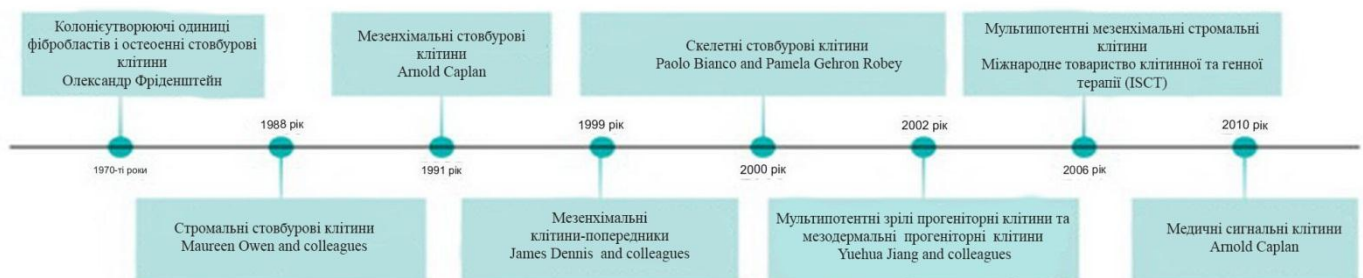


Рис. 4.1. Еволюція визначення MSC [75].

Як вже ми згадували раніше МСК спочатку були ідентифіковані Олександром Фріденштейном як колонієутворюючі фібробласти (КУОф) і остеогенні стовбурові клітини [76,77]. Однак з того часу для опису мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) використовується ряд термінів, включаючи «стромальні стовбурові клітини», які були запропоновані в 1988 р. Maureen Owen та колегами, щоб вказати, що клітини знаходяться в стромальному, а не в кровотворному ростку. Замість того, щоб висвітлювати компартментальне походження клітин, Arnold Caplan запропонував термін «мезенхімальні стовбурові клітини» в 1991 р., щоб підкреслити властивість самовідновлення та потенціал диференціювання клітин [78]. Однак ця номенклатура була оскаржена доктором філософії James Dennis і колегами, які припустили, що клітини можуть бути попередниками, а не стовбуровими клітинами. У результаті був запропонований термін «мезенхімальні клітини-попередники» [79]. У 2000 р. Paolo Bianco і Pamela Gehron Robey придумав «скелетні стовбурові клітини», щоб уточнити, що клітини породжують компоненти скелетної системи, тоді як всього через два роки термін «мультипотентні дорослі клітини-попередники» був запропонований Yuehua Jiang та його колегами для опису мультипотентної природи та потенціалу, статус попередників клітин [80,81]. Оскільки жодні прямі докази не продемонстрували здатність МСК до самовідновлення та диференціювання в умовах *in vivo*, у 2006 р. Міжнародне товариство клітинної терапії запропонувало термін «мультипотентні мезенхімальні стромальні клітини» [82]. Зовсім недавно, у 2010 р., Arnold Caplan припустив, що аббревіатура МСК означає «медичні сигнальні клітини», щоб відобразити, що основна терапевтична користь від МСК може бути пов'язана з секрецією біологічно активних молекул, а не з стовбуровістю клітин [83]. Виходячи з всього вище написаного – можна сформулювати таку філософію згідно якої МСК не є «робітниками» в процесі регенерації, а є «керівниками» процесу відновлення.

Суперечки щодо визначення та номенклатури МСК частково зосереджені на мінімальних критеріях, запропонованих ISCT (International

Society for Cell & Gene Therapy). Відповідно до мінімальних критеріїв, МСК походять не тільки з кісткового мозку, але можуть бути виділені з широкого кола тканин.

Мінімальні критерії для верифікації МСК, запропоновані International Society for Cell & Gene Therapy:

- 1) адгезія до пластику.
- 2)  $\geq 95\%$  популяції МСК повинні експресувати CD73/5'-нуклеотидазу, CD90/Thy1 і CD105/ендоглін, як визначено за допомогою проточної цитометрії.
- 3)  $\leq 2\%$  популяції МСК повинні експресувати CD34, CD45, CD11b/інтегрин альфа М або CD14, CD79 альфа або CD19 і HLA класу II .
- 4) Потенціал мультипотентного диференціювання, що продемонстровано фарбуванням диференційованих клітин *in vitro* .



Рис. 4.2. Мінімальні критерії для верифікації МСК, запропоновані International Society for Cell & Gene Therapy [84].

Також є припущення, що МСК, виділені з різних тканин, фенотипово та функціонально еквівалентні, що означало б, що клітини мають однакові регенеративні здібності *in vivo* . Вважалось, що МСК, виділені з кісткового мозку, і МСК, виділені з плаценти, мають однакову здатність регенерувати скелетну тканину *in vivo*. Деякі вчені стверджують, що це припущення є

необґрунтованим і що визначальними ознаками МСК, запропонованими ISCT, є лише характеристики, спільні для сполучних тканин і периваскулярних клітин. Таким чином, МСК, виділені з жирової тканини, можуть не проявляти таких же регенеративних властивостей *in vivo* як МСК виділені з кісткового мозку. Фактично було припущено, що МСК — це периваскулярні клітини, які є тканинно-специфічними попередниками з обмеженими лініями, і що місцеве середовище та периваскулярне положення можуть пояснювати експресію загальних антигенів[85]. Якщо ця гіпотеза вірна, МСК, виділені з кісткового мозку, мали б здатність регенерувати скелетну тканину *in vivo*, тоді як жирові МСК були б обмежені регенерацією жирової тканини *in vivo*. Крім того, дослідження, що порівнюють хондрогенний і остеогенний потенціал МСК, отриманих з кісткового мозку, зі МСК, отриманими з жирової тканини, показали, що клітини, отримані з кісткового мозку, можуть бути більш придатними для хондрогенезу та остеогенезу через більший ними синтез колагену типу 2, більшу швидкість проліферації та більш нативне колоноподібне розташування після проліферації [86].

Отже, при захворюваннях та травмах опорно-рухового апарату оптимальним є використання МСК червоного кісткового мозку, проте не ізольовано, а разом з унікальним мікросередовищем.

Аспірат кісткового мозку (ВМА) є поширеним джерелом для збору МСК, інших клітин-попередників, а також пов'язаних з ними цитокінів і факторів росту, які використовуються в біологічному лікуванні різних ортопедичних патологій. Аспірат зазвичай центрифугують до концентрованого об'єму (ВМАС), який можна ввести пацієнту.

Основним недоліком для терапії ВМА може бути низька кількість МСК у нативному кістковому мозку, яка становить від 0,001% до 0,02% ядерних клітин [87-90]. Для боротьби з цією проблемою було розроблено методики для концентрування ВМА, виробляючи концентрат червоного кісткового мозку (ВМАС). Попередні дослідження показали, що ці методики здатні

підвищувати концентрацію МСК від 1,6 до майже 5 разів від концентрації в кістковому мозку на початковому рівні[91,92]. Так само було виявлено, що ці методики підвищують концентрацію клітин CD34+, лейкоцитів і тромбоцитів до 4, 4,5 і 11 разів більше, ніж базові вимірювання, відповідно. Також важливою перевагою використання PRP і ВМАС перед нативною венозною кров'ю та червоним кістковим мозком є низький рівень еритроцитів, а відповідно і гемоглобіну. Загально відомий факт, що продукти розпаду гемоглобіну мають згубний вплив на тканини суглоба, більшою мірою на гіаліновий хрящ.

#### 4.2. Аналіз наявних та розробка оптимального алгоритму отримання та використання концентрату червоного кісткового мозку в клінічній практиці

Джерелом МСК може бути цілий ряд тканин. Червоний кістковий мозок є оптимальною тканиною для використання в ортопедії-травматології. Проте є принципові три шляхи обробки червоного кісткового мозку з метою підвищення концентрації МСК: центрифугування, культивування, флуоресцентно-активоване сортування клітин [93].

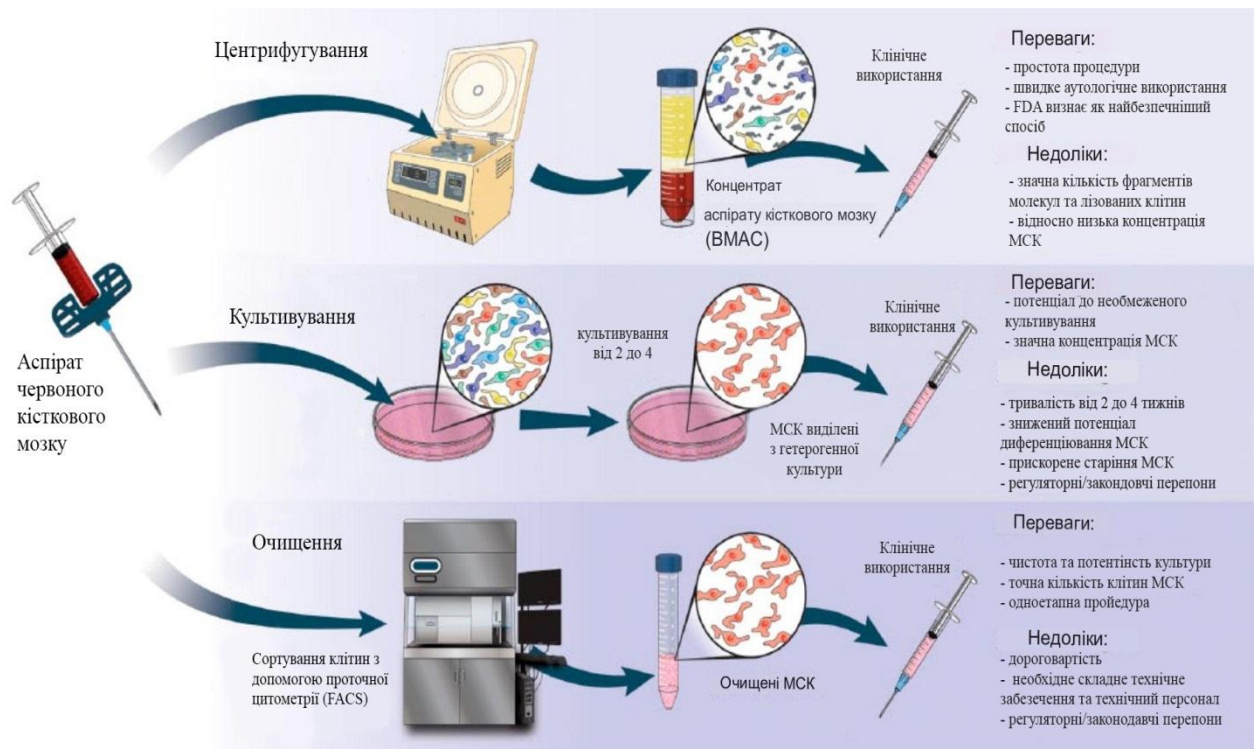


Рис. 4.3. Способи обробки червоного кісткового мозку.

«Гетерогенні» препарати з мінімальною маніпуляцією (наприклад, концентрат аспірата кісткового мозку або ВМАС). Даний спосіб обробки широко доступний і зараз використовується в більшості клінічних досліджень оцінки MSC [94]. Вони привабливі для клініцистів і пацієнтів, оскільки, на відміну від підготовки культури, отримання кісткового мозку і введення готового концентрату відбувається під час однієї процедури. ВМАС включає запальні клітини, гемопоетичні стовбурові клітини, ендотеліальні клітини, нежиттєздатні пошкоджені клітини, цитокіни, цитоплазматичні фактори росту, що загалом формує неповторний «біологічний коктейль»

MSC отримані з культури. Період лабораторного культивування можна використовувати як для диференціації MSC, так і для збільшення їх кількості. Однак залишаються дискусійними питаннями того наскільки ізольована культура клітин MSC здатна до самопідтримання та виживання в умовах *in vivo* без мікросередовища, наскільки ізольовані MSC можуть чинити регенеративний вплив.

За допомогою флуоресцентно-активованого сортування клітин або магнітно-активованого сортування клітин, МСК можна швидко відокремити від інших клітин у суспензії за допомогою антитіл, які націлені на відомі маркери клітинної поверхні МСК. Цей процес не вимагає тривалих періодів лабораторного культивування, а доставка чистих популяцій МСК теоретично може здійснюватися під тією ж анестезією. Використовуючи цю стратегію, 200 мл аспірата червоного кісткового мозку теоретично може дати 31 мільйон МСК, що достатньо для загоєння дефекту діяфіза стегнової кістки розміром 2 см в діаметрі [95]. Але через потребу в клінічних випробуваннях високого рівня ця стратегія наразі обмежена відсутністю офіційної акредитації від відповідних регулюючих органів та відрізняється високою вартістю.

Стосовно регуляторного питання – в Україні не врегульоване використання засобів регенеративної медицини в ортопедії і травматології. В

світі не існує уніфікованих протоколів використання PRP та ВМАС в ортопедії та травматології.

28 квітня 2017 р. набув чинності Наказ МОЗ України № 1422 від 29 грудня 2016 р., який дозволяє українським лікарям використовувати у своїй роботі міжнародні клінічні протоколи.

Використання у лікарській практиці нових клінічних протоколів – один із найважливіших шляхів впровадження доказової медицини в Україні. Доказові клінічні протоколи відіграють провідну роль в системі охорони здоров'я, оскільки несуть значні вигоди для усіх “гравців”: пацієнтів, лікарів, та держави в цілому [96].

Тому ми можемо посилатись на досвід і клінічні протоколи країн заходу з високим рівнем розвитку, наприклад США. Детально розписано особливості використання PRP та ВМАС в гайдлайні для працівників промисловості та управління харчовими продуктами та ліками (FDA - Food and drug administration): «Нормативно-правові вимоги для людських клітин, тканин, клітинних і тканинних продуктів (НСТ/Р - human cells, tissues, and cellular and tissue based products): мінімальні маніпуляції та гомологічне використання» [97].

Регулюється використання PRP та ВМАС відповідно до розділу 361 Закону PHS і 21 CFR, частини 1271. НСТ/Р регулюється виключно відповідно до розділу 361 Закону PHS і 21 CFR, частини 1271, якщо він відповідає всім вимогам:

- 1) НСТ/Р мінімально маніпулюється;
- 2) НСТ/Р призначений лише для гомологічного використання, що відображено на етикетках, рекламі чи інших ознаках об'єктивних намірів виробника;
- 3) Виробництво НСТ/Р не передбачає поєднання клітин або тканин з іншим виробом, за винятком води, кристалоїдів або стерилізуючих, консервуючих або зберігаючих агентів. За умови додавання води,



кристалоїдів або стерилізуючий, консервуючий або зберігаючий агент не викликає нових властивостей [97].

Жовтий кістковий мозок трубчастих кісток та червоний кістковий мозок з різних ділянок відрізняється по концентрації MSCs, що відповідно може впливати на регенеративний потенціал. Так Нуге та його колеги [98] досліджували вміст MSCs в аспіраті кісткового мозку з різних анатомічних ділянок. Їх група збирала кістковий мозок з п'яткової кістки, дистального епіметафіза великогомілкової кістки і гребеня клубової кістки від того ж пацієнта. В результаті виявлено, що MSCs були отримані з усіх 3 доступів, але в значно різній концентрації. Дистальний епіметафіз великогомілкової кістки (32,4 МСК / мкл) і п'яткова кістка (7,1 МСК / мкл), що на 96,4% та 99,2% відповідно менше у порівнянні з гребенем клубової кістки (898,4 МСК/мкл). Це дослідження підтвердило, що аспірат з гребня клубової кістки характеризується безумовно кращими клітинними властивостями.

Хоча було виявлено, що аспірат кісткового мозку із гребеня має вищу концентрацію МСК, його можна збирати з будь-якого місця вздовж гребеня клубової кістки. Відстань від передньої верхньої ості до клубовокрижового з'єднання вздовж гребеня дорівнює приблизно 24 см. Аспірація кісткового мозку може відбуватися в будь-якій точці даної дистанції. Однак, залежно від точки пункції, спостерігаються суттєві зміни в ширині кістки, що збільшує потенціал перфорації кортикалу, а також змінюється відстань до нейросудинних структур. Hernigou та його колеги розділили довжину гребня на 6 секцій, починаючи з передньої верхньої ості, кожен приблизно 4 см в довжину. Кожна розподільна лінія сходилася в центрі кульшового суглоба. Для кожної секції була розрахована товщина між внутрішніми та зовнішніми кортикальними шарами крила, і визначали здатність кожного розділу розмістити гіпотетичний 3-мм троакар. Вони виявили, що розділи 1, 4 та 5 мали найтонші ділянки кістки, що призводить до підвищеного ризику перфорації кортикалу. Вони відзначають, що секції 2 і 3 (4-12 см позаду передньої верхньої ості), а також секція 6 (0-4 см допереду від

клубовокрижового з'єднання) є найбільш оптимальними для розміщення троакарів, тому що в даних секторах крило клубової кістки відносно ширше і більша віддаленість до судинно-нервових структур[99].

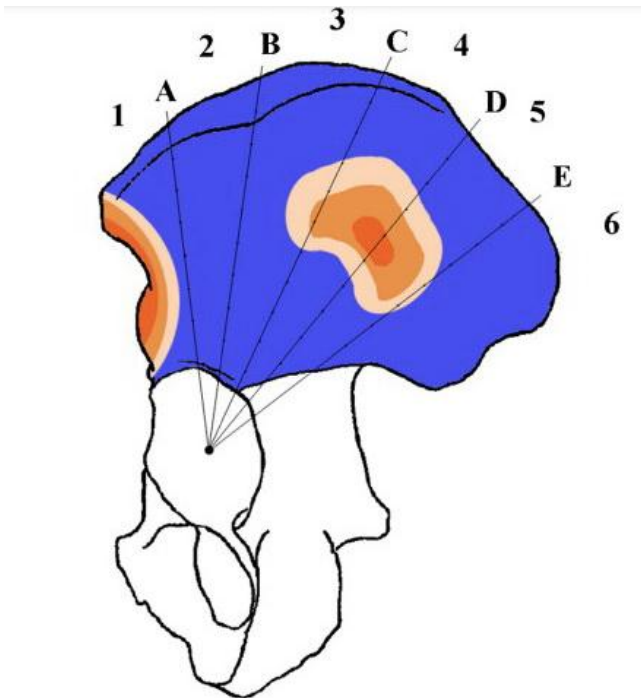


Рис. 4.4. [99] Безпечні сектори для пункції кісткового мозку з крила тазу №2 та 6. При виконанні процедури в положенні пацієнта лежачи на спині – оптимальний сектор № 2, де найбільша ширина між кортикальним шарами кістки за рахунок ілеофemorального підвищення та горбистості.

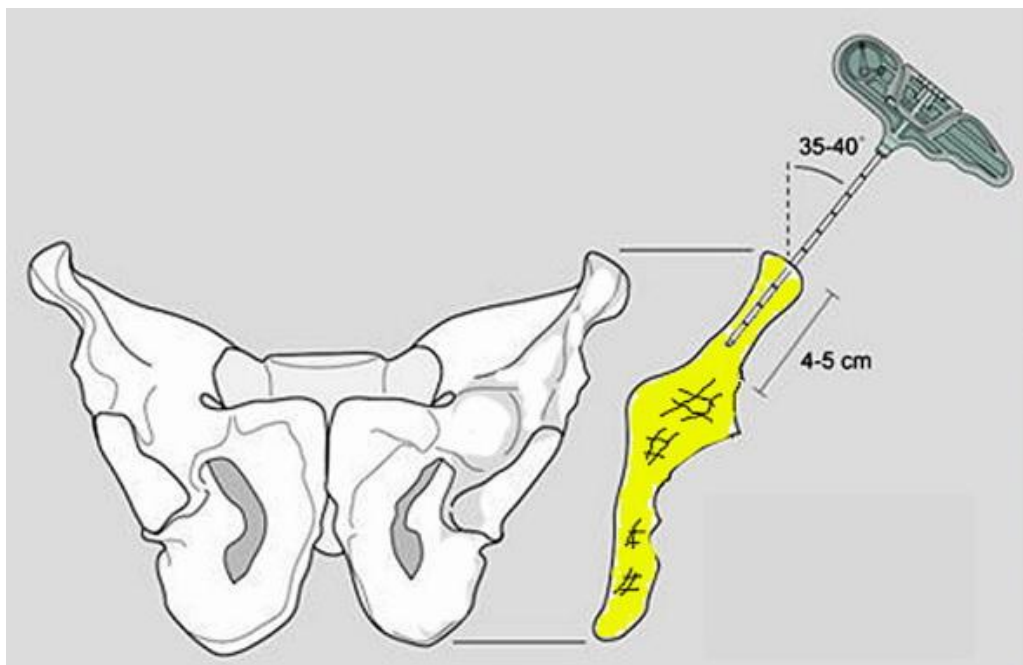


Рис. 4.5. [99] Напрямок введення кістково-мозкової голки типу Jamshidi. Виходячи з анатомії таза – кут нахилу має бути 35-40 градусів в чоловіків, і в жінок може бути дещо більший. Оптимальна глибини занурення до 5 см,

проте при використанні голки з додатковим бічними отворами достатньою є глибина в 2.5-3 см.

Першими анатомічними ділянками, що використовувались для отримання аспірата кісткового мозку, були грудина та передній клубовий гребінь. У 1952 році Vierman був першим, хто виявив, що задній гребінь клубової кістки може бути підходити для отримання аспірата кісткового мозку, оскільки він безпечніший, психологічно менш травматичний і ідеальний для аспірації великих обсягів [100]. Однак на практиці виявлені переваги пункції переднього відділу крила клубової кістки:

1) можливість проведення під внутрішньовенним наркозом, а не локальною інфільтративною анестезією (як відомо місцеві анестетики можуть мати негативний вплив на кістковий мозок);

2) можливість проведення аспірації після основного етапу операції без зміни положення пацієнта;

3) безпечна зона і контроль глибини занурення кістково-мозкової голки.

Метод пункції ЧКМ з гребеня клубової кістки порційно в невеликих об'ємах 1-4 мл з допомогою шприца 10 мл був запропонований як стандартний, щоб уникнути розведення кров'ю. Недоліком повторних дрібних пункцій є те, що значно збільшується час збирання кісткового мозку. В дослідженні кісткового мозку продемонстровано більшу концентрацію МСК із 10-мл шприцем порівняно з пунктатом отриманим за допомогою шприца 50 мл. Концентрації МСК були в середньому на 300% вищими, використовуючи 10-мл шприц, ніж використовуючи 50-мл шприц [101]. Для попередження зниження якісних характеристик кісткового мозку під час аспірації краще виконати декілька пункцій меншого об'єму аніж одну загального об'єму. Так наприклад 4 пунктати по 1 мл мають вдвічі більше МСК порівняно з одним пунктатом 4 мл, а при використанні 10-мл шприца, концентрація МСК зменшилася на 82% порівнюючи склад 1-го і 10-го мл аспірованих зразків або від 2062 МСК / мкл до 376 МСК / мкл. Висновок полягає у тому, що перші 10%-20% обсягу шприца мають кращу

концентрацію МСК. Зі збільшенням кількості аспірата зразок може бути розбавлений периферичною кров'ю, зменшуючи таким чином концентрацію МСК[102].

#### **4.3. Оптимізація методики за рахунок розробки технічних засобів**

На даний момент відомо декілька десятків пристроїв для аспірації кісткового мозку, проте кожен з них має як ряд переваг так і ряд недоліків, що може викликати труднощі при їх використанні. За прототип більшості сучасних голок для пункції кісткового мозку взято кістковомозкову голку розроблену Khosrow Jamshidi [103]. До цього біоптатну тканину отримували за допомогою ряду спеціальних інструментів для біопсії. Одним з таких інструментів є голка для біопсії, яка, як правило, має витягнуту циліндричну конструкцію, і тканина збирається всередині голки. Однак було встановлено, що тканина біопсії, зібрана на таких голках, стискається і часто подрібнюється, так що зразок непридатний для використання. Голки для біопсії цього типу використовувались для отримання стовпчиків спонгіозної кісткової тканини, і коли зразок непридатний для використання, потрібно отримати новий зразок. Отже, загальною метою даного винаходу було створення голки для біопсії, дистальний кінець якої має рівномірно звужену внутрішню частину, так що зразку дозволяється розширюватися, коли він збирається, і тому не буде подрібнений і пошкоджений. Голка передбачалась не тільки для отримання біопсійної кісткової тканини, але також для біопсії печінки, нирок, селезінки, шкіри, м'язових та інших тканин. В голці для біопсії є великою перевагою – ріжуча кромка у вигляді подвійної пилки. Дана кістковомозкова голка розроблялась в першу чергу для стовбчикowego забору біопсійного матеріалу і вже як додаткова опція - можливість пункції кісткового мозку. Дана кістковомозкова голка була багаторазового використання, що можна розглядати як недолік.

Наступну версію голки для біопсії Khosrow Jamshidi розробив для Medical Biopsy, Inc., Minneapolis, Minn[104]. Серед конструкційних змін

даного виробу: передбачене одноразове використання, відсутність конусоподібності дистальної частини голки, зміна ергономіки ручки.

Паралельно в багатьох країнах патентувались подібні винаходи з тими чи іншими конструкційними відмінностями для більш вузьконаправленого використання.

Відомий пристрій [105] відноситься до сучасної генерації кістковомозкових голок. Голка для біопсії кісткового мозку розроблена для досягнення максимальних результатів як щодо зручності застосування, так і щодо безпеки для пацієнта. Виріб виготовлено з спеціальної сталі, що забезпечує надзвичайну жорсткість голки. Можливість Luer-lock підключення. Стиллет має пірамідоподібне заточування. Дистальна частина канюлі має додаткові бічні отвори. Наявний один пристрій системи блокування стилета. Під час клінічного використання виявляється ряд недоліків, що можуть негативно впливати на процес використання даного виробу. До недоліків даного виробу можна віднести:

- 1) відсутність шкали заглиблення, що може викликати недостатнє або надто глибоке входження в кістку;
- 2) недостатньо зручна ручка, що впливає на надійність захвату голки лікарем;
- 3) недостатня кількість бічних отворів на дистальній частині, що впливає на ступінь дилуції кісткового мозку цільною кров'ю;
- 4) ненадійна система блокування стилета.

В основу даної корисної моделі поставлено задачу удосконалення пристрою для аспірації кісткового мозку з кісток тазу, кісток кінцівок та тіл хребців людини.

Поставлена задача вирішується нами тим, що удосконалена кістковомозкова голка має ряд доопрацювань, що збільшує безпечність процедури для пацієнта та лікаря, робить роботу лікаря більш комфортною, покращується якість аспірата кісткового мозку. Конструкційні покращення:

1) На зовнішній поверхні стилета голки з двох сторін нанесена міліметрова шкала, що відображає глибину занурення в кістку. Якщо говорити про пункцію кісткового мозку з переднього відділу крила тазу рекомендована глибина занурення має бути більше 30мм. В той же час глибина занурення має бути безпечна, що особливо актуально при біопсії тіла хребця чи заднього відділу крила тазу.

2) Введення голки для біопсії через кортикальний шар кістки вимагає від лікаря великої сили натиску. Цьому значно сприяє ергономічна ручка, яка щільно прилягає до руки і дозволяє генерувати велику силу проти голки при оптимальному розподілі сили. Ручка має заглиблення під пальці, що зменшує ковзання та втомлюваність руки.

3) Кількість додаткових бічних отворів на дистальній частині голки максимальна для аспірації кісткового мозку як з найбільшого об'єму спонгіозної кістки. Це покращує склад кісткового мозку, зменшує його дилуцію цільною кров'ю.

4) Два дублюючі механізми фіксації стилета в ручці голки, що унеможлиблює злам, прокручування чи випадіння стилета.

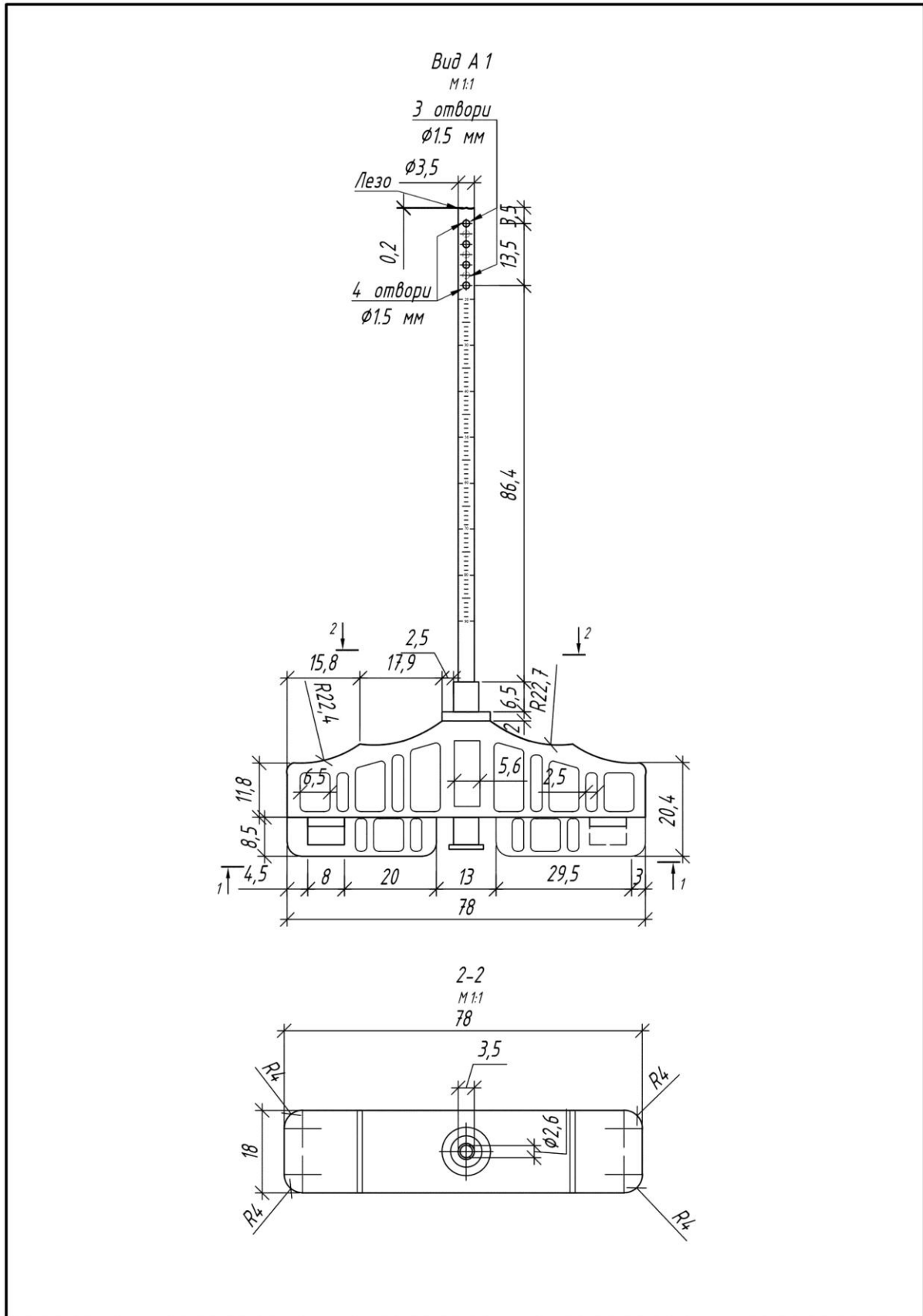


Рис. 4.6. Кістковомозкова голка ЕВМ (easy bone marrow), основна (зовнішня) частина.

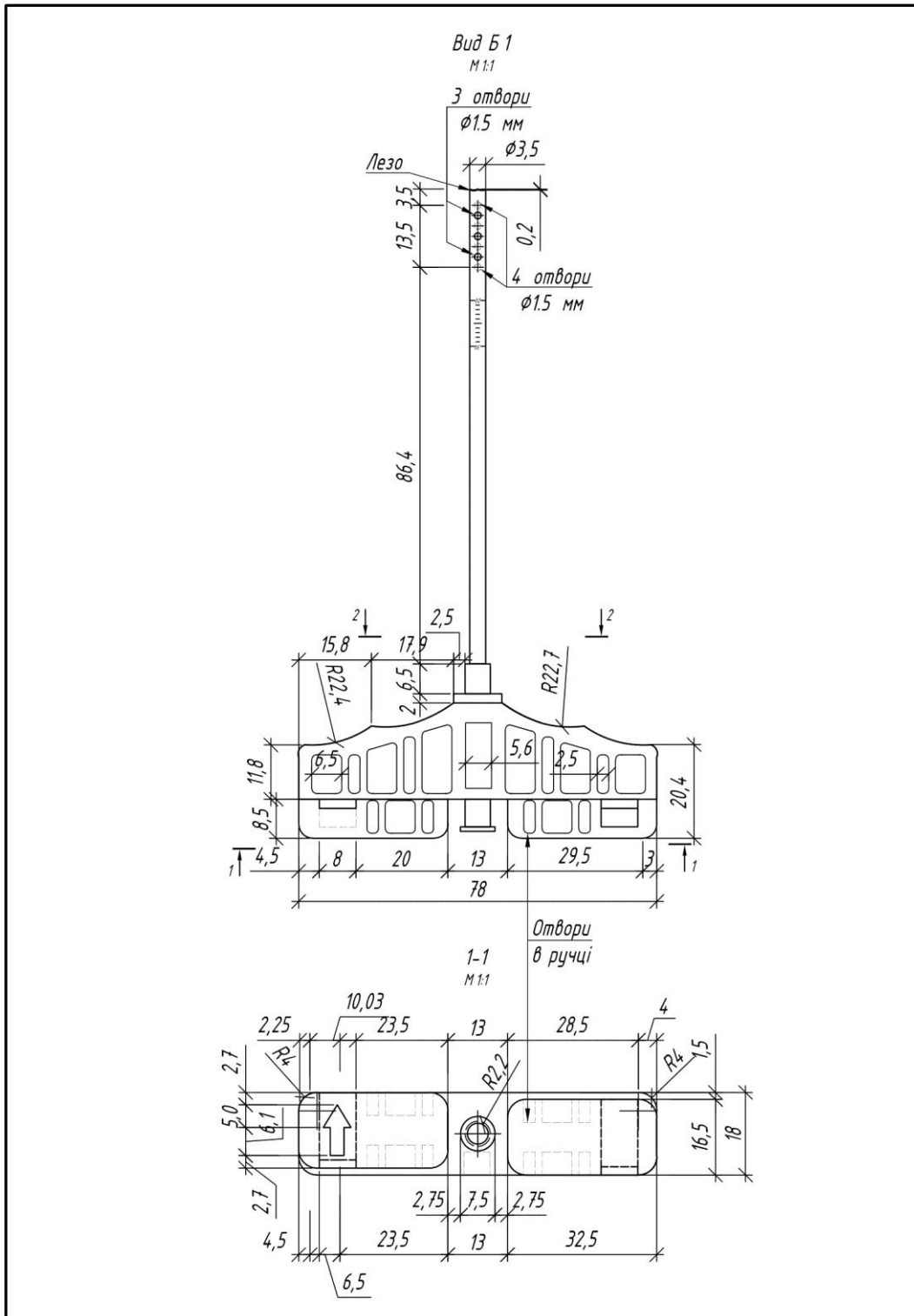


Рис. 4.7. Кістковомозкова голка ЕВМ (easy bone marrow), основна (зовнішня) частина



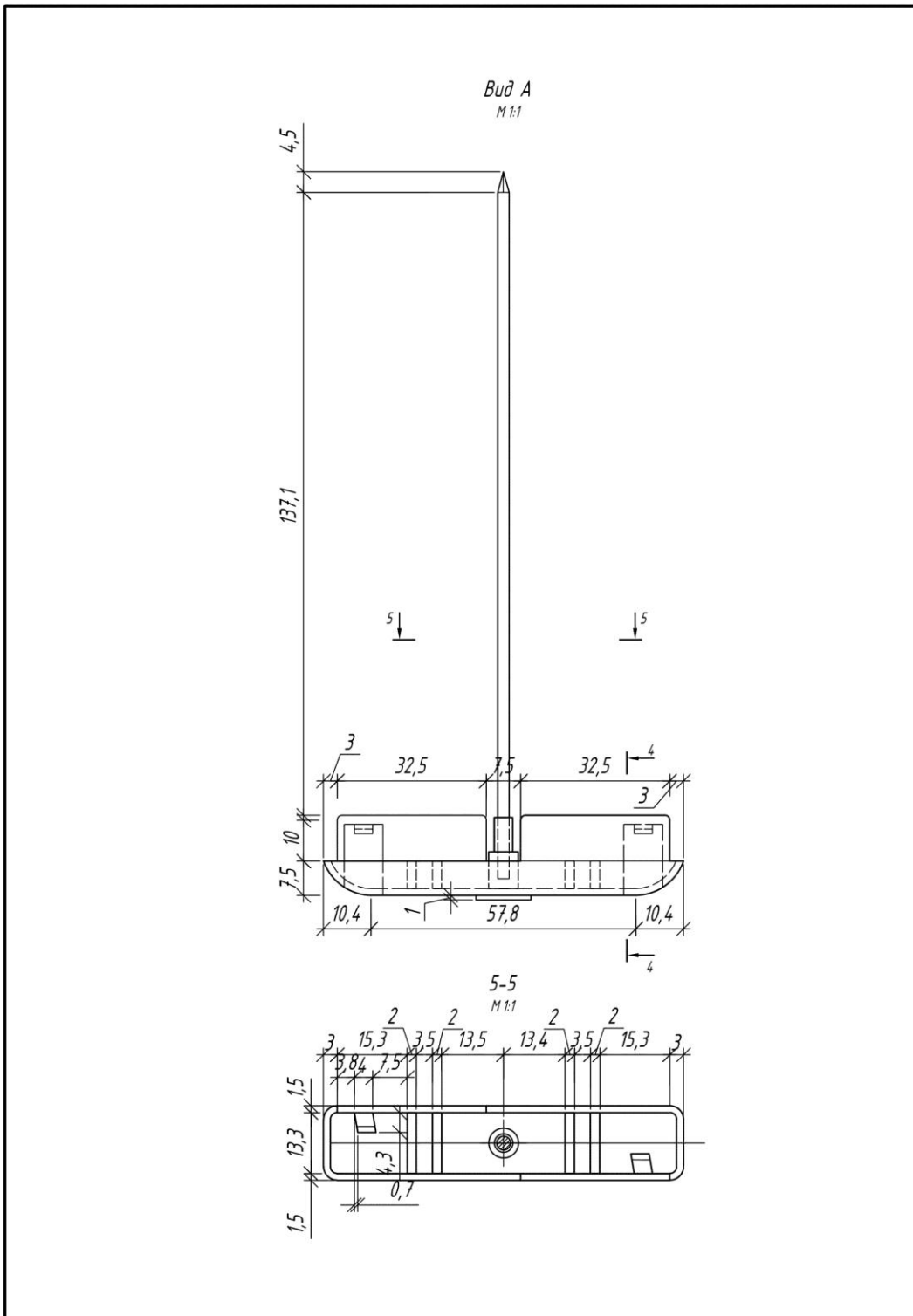


Рис. 4.8. Кістковомозкова голка ЕВМ (easy bone marrow), стилет (внутрішня частина)

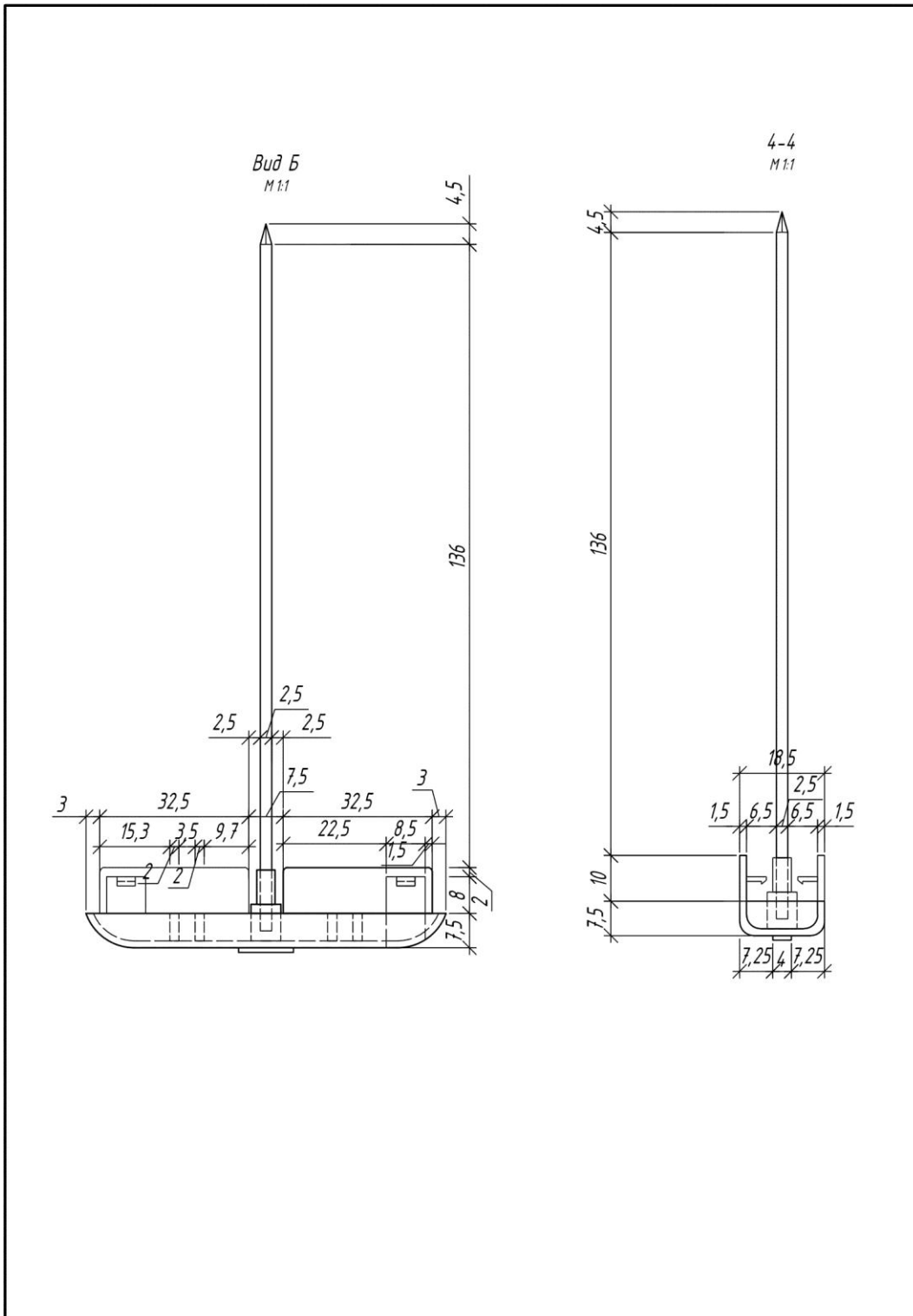


Рис. 4.9. Кістковомозкова голка ЕВМ (easy bone marrow), стилет (внутрішня частина)

## РОЗДІЛ 5

### РЕЗУЛЬТАТИ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ З ОСТЕОАРТРИТОМ

#### 5.1. Методика використання концентрату червоного кісткового мозку, збагаченої тромбоцитами плазми та крослінкованої гіалуронової кислоти в клінічній практиці

Bone marrow aspirate concentrate (ВМАС) (досл.: концентрат аспірата кісткового мозку) – це сучасна регенеративна терапія, яка допомагає природнім шляхом відновити ушкодженні ділянки опорно-рухової системи за рахунок впливу збалансованого комплексу мезенхімальних стовбурових клітин, факторів росту, цитокінів. ВМАС – став важливим біологічним інструментом для ортопедичного хірурга, оскільки він є однією з небагатьох форм доставки стовбурових клітин та факторів росту, які на сьогодні затверджені Управлінням контролю за продуктами та ліками США (FDA).

Червоний кістковий мозок (ЧКМ) є напіврідкою субстанцією похідною мезенхімального ростка, виконує ряд функцій, основна з яких кровотворна і забезпечення регенераторного потенціалу організму за рахунок збереження стовбурових фракцій клітин протягом життя. Червоний кістковий мозок містить мезенхімальні стовбурові клітини (MSC), гематопоетичні стовбурові клітини, тромбоцити (містять фактори росту) та цитокіни. Концентрат червоного кісткового мозку в порівнянні з нативним кістковим мозком та збагаченою тромбоцитами плазми має в своєму складі більший спектр факторів росту і фракцій клітин – тому ймовірно володіє кращим регенераторним потенціалом [106].

Філософія впливу ін'єкцій на суглоб:

1) ВМАС - модель перелому плоскої кістки з внутрішньосуглобовим виливом червоного кісткового мозку і відповідною запальною, імунною, хемотаксичною та відновною реакцією організму. Можна провести паралель з тим фактом, що в дітей після перелому кістки регенерація та ремоделювання відбувається значно ефективніше ніж в дорослому організмі. Це може бути

пов'язано з тим, що в дитячому віці в трубчастих кістках скелету міститься червоний кістковий мозок, а в дорослому віці склад кісткового мозку суттєво змінюється і він стає жовтим кістковим мозком. «Активний» червоний кістковий мозок зберігається в дорослому віці тільки в кістках тазу, грудині, тілах хребців, епіметафізах трубчастих кісток. Тому вводячи в уражений суглоб концентрат червоного кісткового мозку, ми вводимо наш організм «в оману» і він це «сприймає» наче травму скелету дитячого віку і відповідно відновлює пошкоджені структури.

2) PRP - модель травми м'яких тканин з крововиливом та відповідною реакцією. Коли відбувається пошкодження структур опорно-рухового апарату (м'язів, зв'язок, сухожилків, фасцій і тп) завжди виникає гематома. Вона виступає субстратом для формування сполучнотканинного рубця та заживлення. Гематома проходить серію перетворень.

3) НА (гіалуронова кислота) – завершальна ін'єкція, яка виконується перед поверненням до фізичних навантажень і має за мету профілакувати повторні пошкодження та перевантаження хряща. Активна речовина гіалуронат натрію є важливим компонентом екстрацелюлярного матриксу, відновлює фізіологічний гомеостаз та реологічні властивості синовіальної рідини, нормалізує склад синовіальної рідини, активуючи біосинтез гіалуронової кислоти у клітинах синовіальної оболонки.

Відсутні уніфіковані рекомендації отримання та використання ВМАС в ортопедії і травматології. Спираючись на власний досвід, наукові публікації та конкретні клінічні задачі ми розробили оптимальний алгоритм використання ВМАС при ОА. Перед виконанням процедури проводиться лабораторне обстеження, що включає в себе: загальний аналіз крові, коагулограму, скринінговий біохімічний аналіз крові. Пацієнт госпіталізується в денний стаціонар. Аспірація червоного кісткового мозку проводиться в умовах операційної з дотриманням принципів мінімальної маніпуляції над біологічними продуктами.

Процедура виконується під внутрішньовенним знеболенням:

Анальгетик – Фентаніл 100-200мкг титруючи (Товариство з обмеженою відповідальністю «Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров'я народу», Україна).

Гіпнотик - Пропофол 300-500мг титруючи (B. Braun Melsungen AG, Німеччина).

Інфузія – Стерофундін 500-800мл (B. Braun Melsungen AG, Німеччина)  
Місцеві анестетики не використовували в зв'язку з повідомленнями про цитотоксичний вплив місцевих анестетиків на МСК і інші клітини кісткового мозку.

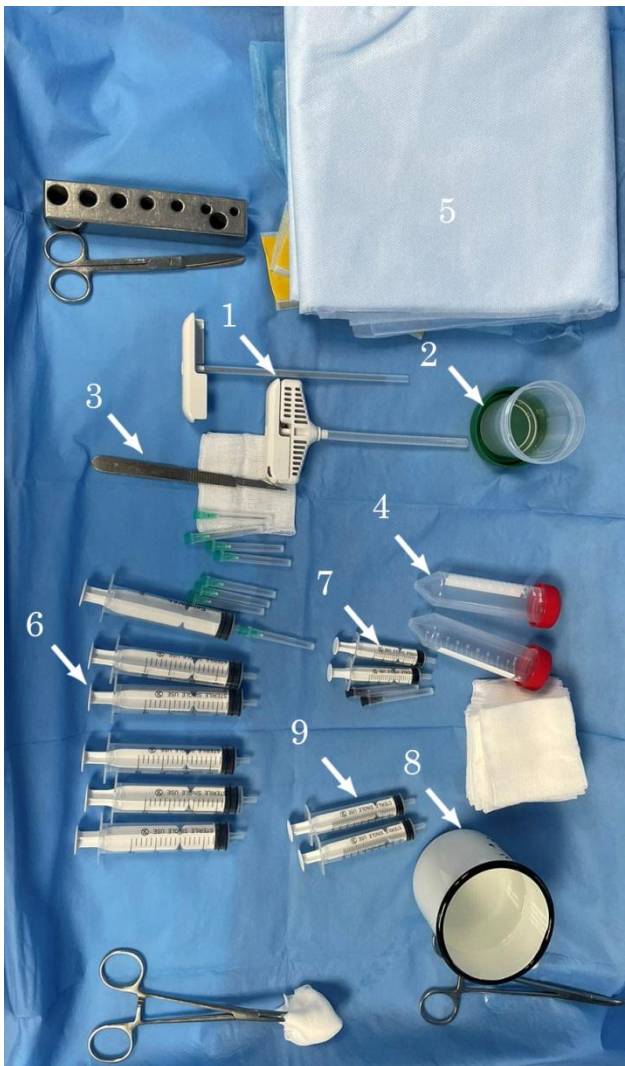


Рис.5.1. Набір для проведення пункції червоного кісткового мозку, концентрування та внутрішньосуглобового введення (в 2 суглоби)

1 - кістковомозкова голка типу Jamshidi (Biomedical, Італія). 2 – розчин гепарину 100 МО/мл (ТОВ «ФАРМЕКС ГРУП», Україна). 3 – скальпель №11. 4 – пробірка типу Falcon. 5 – набір одноразових хірургічних покриттів. 6 - шприци для забору кісткового мозку. 7 – шприци для навігації. 8 - Cutasept F («Bode Chemie GmbH & Co» , Німеччина). 9 – шприци для забору концентрату кісткового мозку

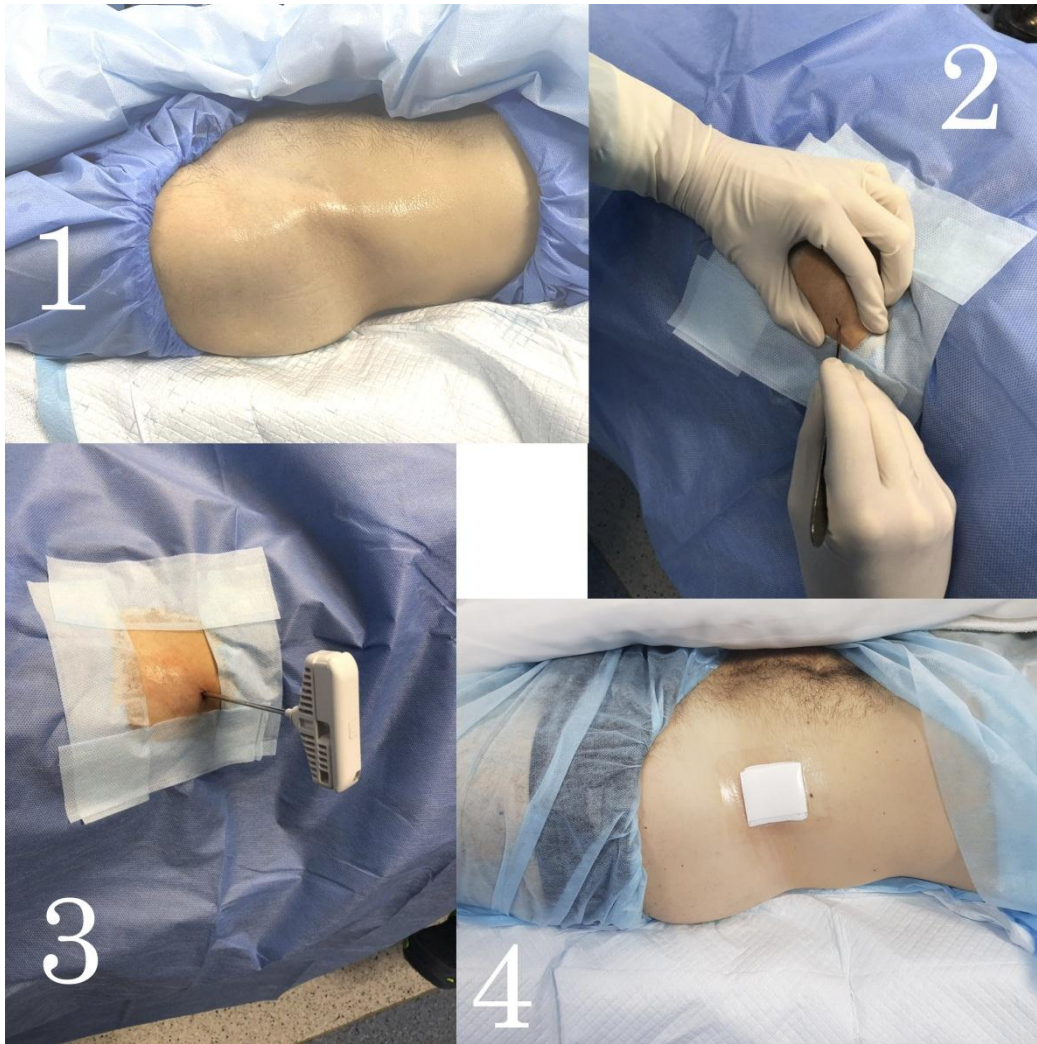


Рис.5.2. Етапи пункції кісткового мозку.

Положення пацієнта на операційному столі на спині. Після трикратної обробки ділянки крила тазу антисептиком (Cutasept F «Bode Chemie GmbH & Co», Німеччина) виконується розріз шкіри 3-4 мм з допомогою скальпеля №11. В більшості випадків пункція виконувалась з лівого крила тазу – для зручності під праву руку (Якщо оператор шульга – з правого крила тазу). Кістковомозкова голка типу Jamshidi товщиною 9 G та довжиною стилету 10 см з додатковими бічними отворами ретельно промивається в розчині гепарину 100 МО/мл (ТОВ «ФАРМЕКС ГРУП», Україна). Попереднє промивання розчином антикоагулянту пов'язане з тим, що метал при контакті з ЧКМ є фактором запуску каскаду тромбоутворення. Технікою free-hand в проміжку 4-8 см до заду від передньої верхньої ості тазу голка занурюється в спонгіозну кістку на глибину до 5 см під кутом нахилу до

сагітальної і фронтальної площини близько 35-45 градусів. Аспірується червоний кістковий мозок шприцами 20 мл з попередньо набраним цитратом декстрази (ACD–A, MascoPharma, France) в співвідношенні 1:8. Загальний об'єм аспірата разом з цитратом декстрази 50 мл на один суглоб чи таргетну ділянку. Під час пункції важливо не створювати надмірного від'ємного тиску в шприці, адже це спричинює додаткову гемодилуцію, лізис клітин та може провокувати тромбоутворення. Червоний кістковий мозок порівняно з венозною кров'ю активніше піддається до тромбоутворення, тому важливо щоб різниця в вазі пробірок була мінімальна, це попередить вібрації під час центрифугування. Для контролю ваги використовуються міліграмові ваги, в нашій роботі допустима різниця між пробірками була 0.1 грам.

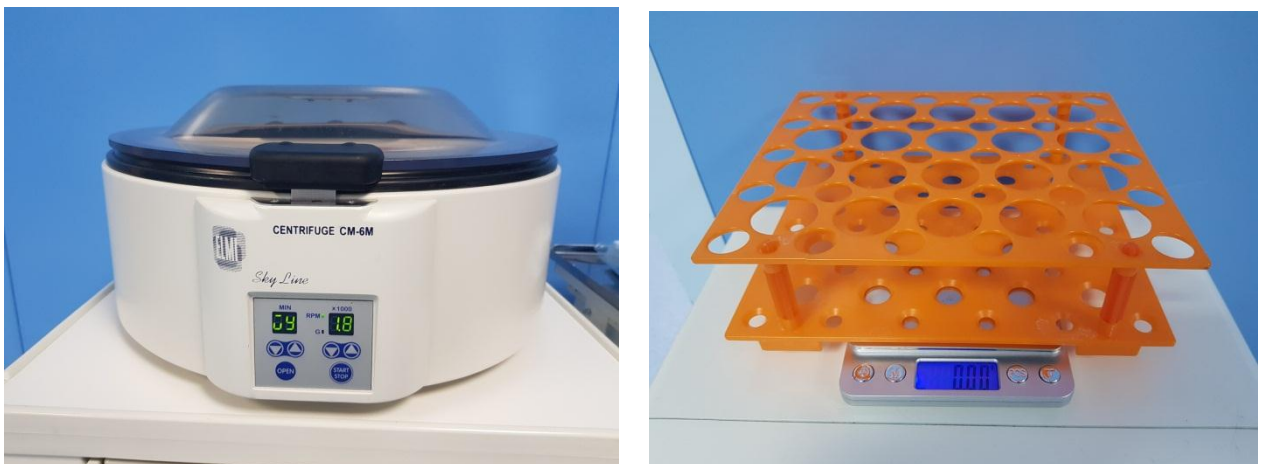


Рис 5.3. Центрифуга Elmi CM-6M (Латвія). Міліграмові ваги для контролю ваги.

Центрифугування проводиться на 2000 обертів (738 RCF/G) 10 хв. в умовах операційної. Від моменту пункції червоного кісткового мозку до внутрішньосуглобового введення концентрату червоного кісткового мозку важливо мінімізувати час. При злагодженості процесу від початку пункції до внутрішньосуглобового введення проходить 14-16 хвилин.

Після розділення ЧКМ на шари, відбирається середній «багатий шар». Допускається незначне захоплення еритроцитарного шару. На один крупний суглоб (колінний, кульшовий, плечовий) забирається 8-10 мл концентрату

червоного кісткового мозку. Забір здійснюється ручним способом з допомогою «спінальної» голки товщиною 19G.

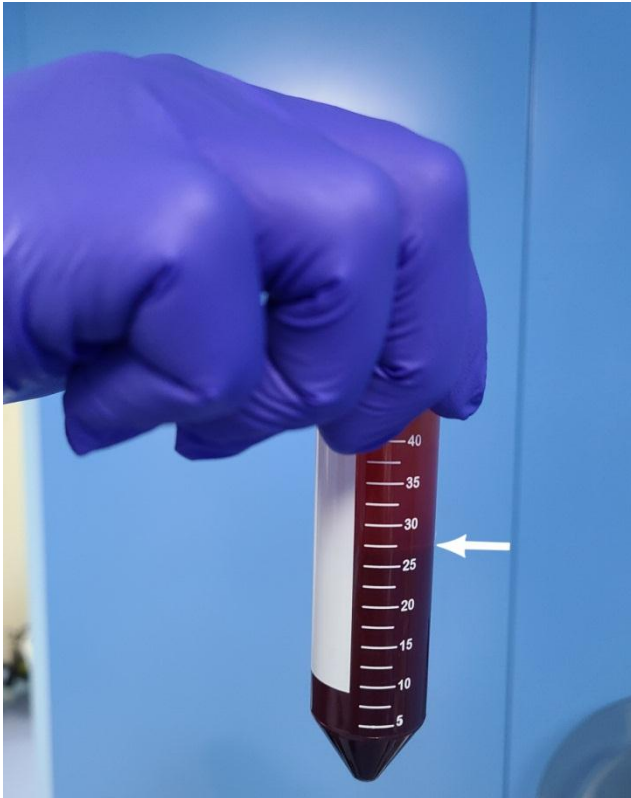


Рис. 5.4. Білою стрілкою відмічено «багатий шар»



Рис. 5.5. 1 – концентрат червоного кісткового мозку. 2 – «навігаційні» шприци з розчином 0.9% NaCl





Рис. 5.6. При внутрішньо суглобовому введенні обов'язково використовується ультразвукова навігація.

Трикратна обробка ділянки внутрішньосуглобової ін'єкції антисептиком (Cutasept F «Bode Chemie GmbH & Co», Німеччина) з дотриманням експозиції. Під ультразвуковою навігацією внутрішньосуглобове введення.

Як мінімум три тижні до та після ін'єкції ВМАС не рекомендується використовувати глюкокортикостероїди. Протягом тижня до та після ін'єкції ВМАС не рекомендується використовувати нестероїдні протизапальні препарати. В перші 24-48 годин при наявності больового синдрому в ділянці ін'єкції чи ділянці пункції рекомендується використання сухого холоду локально по 15-20 хв до 5 р/добу. При наявності вираженого больового синдрому – препаратом вибору є Парацетамол таб 1000 мг 1-2р/добу. Після ін'єкції пацієнт перебуває в умовах денного стаціонару 2-3 години. Контрольний огляд та УЗД проводиться через 5-7 днів. Післяопераційні рани заживають первинним натягом без ушивання до 10 доби. Рекомендується утриматись від фізичного навантаження та занять спортом протягом 7 днів після процедури.

Через 3 тижні та 6 тижнів після ін'єкції ВМАС – амбулаторно виконувались внутрішньосуглобові ін'єкції platelet rich plasma під ультразвуковим контролем. Вперше вивчалось поєднання почергового

використання внутрішньосуглобових ін'єкцій: ВМАС, двічі PRP та однієї ін'єкції крослінкованої гіалуронової кислоти при ОА.

Рекомендації різних науковців відрізняються стосовно інтервалу між ін'єкціями. Багато авторів сходяться на думці, що інтервал між ін'єкціями має бути близько 7-10 днів. Це пояснюється теорією каскадного наростання реакції організму. ВМАС і PRP – є штучними моделями травми, а відповідь організму на м'якотканинну травму протікає близько 3 тижнів. Тобто прихильники цієї теорії посилаються на зростання реакції організму на кожен наступну ін'єкцію не чекаючи доки закінчиться реакція від попередньої ін'єкції. Проте деякі дослідження говорять про взаємоінгібуючий вплив різних факторів росту, як в ВМАС так і в PRP. Тому вважаємо за доцільне робити дані внутрішньосуглобові ін'єкції один раз на три тижні, дочекавшись поки реакція організму на попередню ін'єкцію пройде всі етапи і закінчиться, «відпрацюють» всі фактори росту.

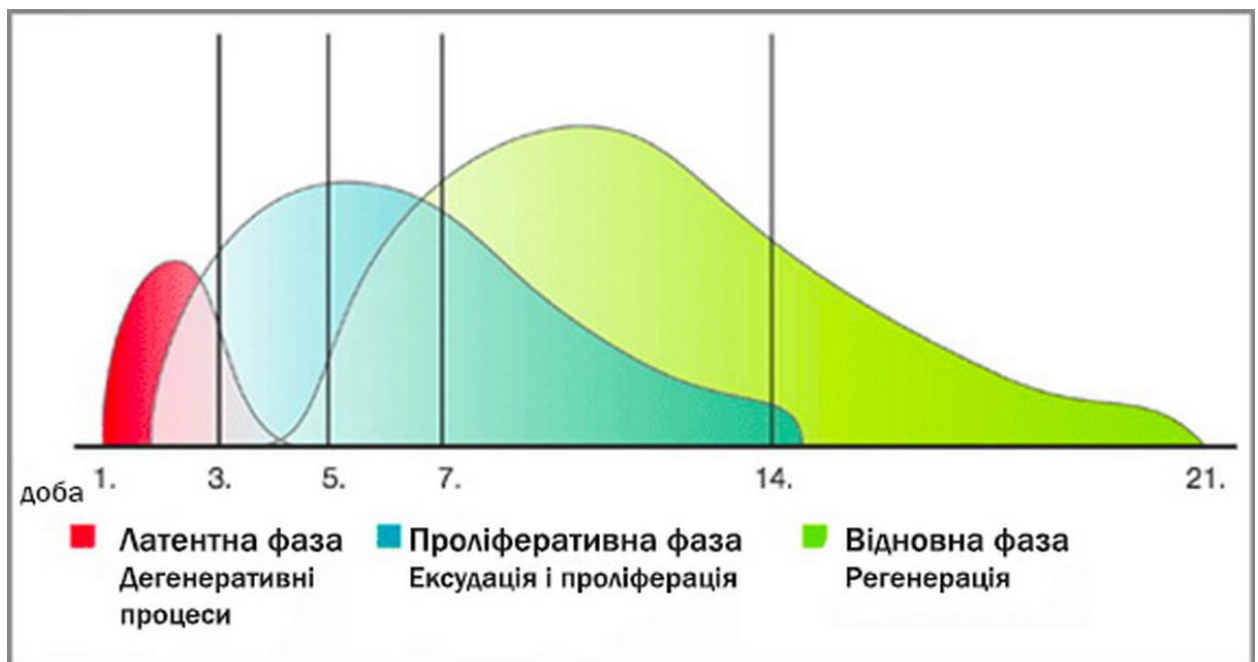


Рис. 5.7. Стадії перебігу післятравматичної реакції організму людини [107].

Розроблена методика утворення збагаченої тромбоцитами плазми відрізняється простотою.

Як мінімум три тижні до та після ін'єкції PRP не рекомендується використовувати глюкокортикостероїди. Протягом тижня до та після ін'єкції PRP не рекомендується використовувати нестероїдні протизапальні препарати. За 4 години до забору крові рекомендується не їсти, не пити солодких напоїв, рекомендується більше пити звичайної води.

Процедура проводиться амбулаторно в умовах маніпуляційного кабінету. Забір крові з кубітальної вени - 20 мл на один суглоб. Кров переміщується в одноразову стерильну пластикову пробірку типу Falcon і центрифугується на 0.6 G (1803RPM) протягом 8хв центрифугою Elmi CM-6M (Латвія).

В клінічній роботі немає необхідності використовувати антикоагулянти чи гемоконсерванти, адже час від забору крові до початку центрифугування і далі до введення в таргетну ділянку надто малий для тромбоутворення. Це досягається за рахунок злагоженості процесу.

Перед початком центрифугування зразки зважувались для максимальної симетричності ваги пробірки та контрпробірки і мінімізації вібрацій. Важливо щоб пробірки були пластикові і загалом не було контакту крові з скляними поверхнями, оскільки діоксин кремнію здатний запускати каскад тромбоутворення.

Після закінчення центрифугування, ручним способом забирається шар плазми багатий тромбоцитами в об'ємі близько 3.5-4 мл та під ультразвуковим контролем вводиться внутрішньосуглобово.



Рис 5.8. Ручний забір збагаченої тромбоцитами плазми.

Через 9 тижнів після ВМАС – виконувалась однократна ін'єкція препарату гіалуронової кислоти (ПроФЛЕКС ІНТРА 20 мг / мл (3 мл) Delta Medical Promotions AG).

Препарат містить гіалуронат натрію синтезований і структурований методами біоінженерії із метаболітів стрептококової ферментації, який має високу в'язкоеластичну, змащувальну здатність, фізичну мінливість та високу біосумісність. Стерильний, вільний від пірогенів, алергенів, генетичної токсичності й не чинить подразнювальну дію на шкіру. При використанні у формі внутрішньосуглобової ін'єкції проФЛЕКС ІНТРА об'ємно заміщає синовіальну рідину, стимулює синовіальну оболонку виробляти власний високомолекулярний гіалуронат, який підвищує рухливість суглоба, діє як амортизатор, зменшує вираженість болю, активує процеси відновлення тканин суглобового хряща і уповільнює прогресування захворювання.

## 5.2. Дизайн дослідження та проведення його етапів

В період з 2018 по 2021 рр. на лікуванні знаходилось 114 хворих з діагнозом: Остеоартрит колінного суглоба 1-3 ст. за Kellgren-Lawrence. Пацієнтів було розподілено на основну та групу порівняння. Групи були однорідними по стадії захворювання, віку та статі. Основна група дослідження 57 хворих - яким проводилось лікування з використанням запропонованих засобів регенеративної медицини (збагачена тромбоцитами плазма (PRP), концентрат червоного кісткового мозку (ВМАС) та гіалуронова кислота (НА). Група порівняння 57 хворих - яким лікування проводилось відповідно до міжнародного клінічного протоколу лікування пацієнтів з ОА, а саме відповідно до рекомендацій ESCEO (European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases) [108]. Дані рекомендації включають базу і декілька ліній лікування. Додатково рекомендації були адаптовані нами під використання в дослідженні.

База лікування - це інформування та навчання про природу ОА та виконання структурованих програм фізичних вправ.

Перша лінія лікування:

- Апаратне фізіотерапевтичне лікування відповідно до призначень спеціаліста-фізіотерапевта;
- SYSADOA - фармацевтичний клас глюкозаміну сульфат і/або хондроїтин сульфат;
- Короткочасний прийом парацетамолу в малих дозах;
- Місцеві НПЗП при стійких симптомах.

Друга лінія лікування:

- Циклооксигеназа-2-селективні препарати і неселективні НПЗП. Препаратами вибору були Еторикоксиб таб 60 або 90 мг/добу або Лорноксикам таб 8 або 16 мг/добу.
- До другої лінії лікування відповідно до рекомендацій ESCEO входять внутрішньосуглобові ін'єкції глюкокортикостероїдів та препаратів

гіалуронової кислоти, проте, як зазначалось раніше, пацієнтам з групи порівняння внутрішньосуглобові ін'єкції не виконувались.

Третя лінія лікування пацієнтів з ОА відповідно до рекомендацій ESCEO включає Дулоксетин та короткочасний прийом опіоїдів. Проте в дослідженні пацієнтам з групи порівняння дані препарати не рекомендувались.

**Критерії включення:**

Вік 18 років і старше;

Клінічно та/або рентгенологічно підтверджений діагноз ОА колінного суглоба (KL ступеня 1–3) за останні 6 місяців;

Біль у коліні ( $\geq 3$  за шкалою VAS), що турбує протягом 6 місяців або більше;

**Критерії виключення:**

Неможливість надати інформовану згоду;

Діагностовані захворювання опорно-рухового апарату ревматоїдного характеру;

Злоякісні онкологічні захворювання в анамнезі;

Захворювання крові, згортальної системи крові та системи кровотворення в анамнезі;

Осьові деформації, нестабільність колінного суглоба;

Будь-які внутрішньосуглобові ін'єкції за останні 6 місяців;

Гострі або хронічні (у разі наявності активності патологічного процесу) інфекційні захворювання.

Об'єктивно оцінити зміни хряща та інших структур колінного суглоба на практиці проблематично. МРТ з картуванням має значну вартість і не доступне на час проведення дослідження в Україні. Рутинна діагностична артроскопія в динаміці не практикується. Саме тому суб'єктивні опитувальники, МРТ та рентгенографія в динаміці – залишаються можливими критеріями оцінки. Окремі випадки ревізійних артроскопій при

наявності показань також дозволяли візуально оцінити зміни хрящової тканини та загалом структур суглоба.

### 5.3. Результати лікування хворих з остеоартритом з використанням концентрату червоного кісткового мозку та збагаченої тромбоцитами плазми

Оцінка результатів лікування проводилась через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців за допомогою міжнародної опитувальної шкали Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), даних повторних магнітнорезонансних та рентгенологічних досліджень, а також безпосереднього макроскопічного дослідження при повторних артроскопіях.

Доведено, що стандартна методика лікування (група порівняння) пацієнтів з ОА має виражений, але короткотривалий ефект, а при припиненні або зменшенні фармакологічного лікування – клінічна та функціональна картина погіршується, що може свідчити про прогресування ОА.

Термін / Шкала оцінки	До лікування	1 місяць	3 місяці	6 місяців	9 місяців	12 місяців
КООС Основна група	45.25 (+/-6,92)	53.13 (+/-7,52)	82.35 (+/-10,15)	77.55 (+/-9,52)	71.46 (+/-10,66)	68.52 (+/-8,87)
КООС Група порівняння	45.25 (+/-6,92)	76.38 (+/-11,55)	62.03 (+/-9,42)	48.09 (+/-7,12)	48.84 (+/-6,32)	44.12 (+/-5,56)

Табл.5.1. Результати лікування.

На початку лікування показник KOOS (Knee and Osteoarthritis Outcome Score) в групі порівняння складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 76.38 ( $\pm 11,55$ ), 3 міс. - 62.03 ( $\pm 9,42$ ), 6 міс. - 48.09 ( $\pm 7,12$ ), 9 міс. - 48.84 ( $\pm 6,32$ ) і 12 міс. - 44.12 ( $\pm 5,56$ ) ( $P < 0,05$ ). В основній дослідній групі за рахунок регенеративного впливу - виражений клінічний та функціональний ефект від лікування з'являвся через три місяці і залишався стійким в терміні

спостереження до 12 місяців. На початку лікування KOOS складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 53.13 ( $\pm 7,52$ ), 3 міс. - 82.35( $\pm 10,15$ ), 6 міс. - 77.55 ( $\pm 9,52$ ), 9 міс. - 71.46 ( $\pm 10,66$ ) і 12 міс. - 68.52 ( $\pm 8,87$ ) ( $P < 0,05$ ).

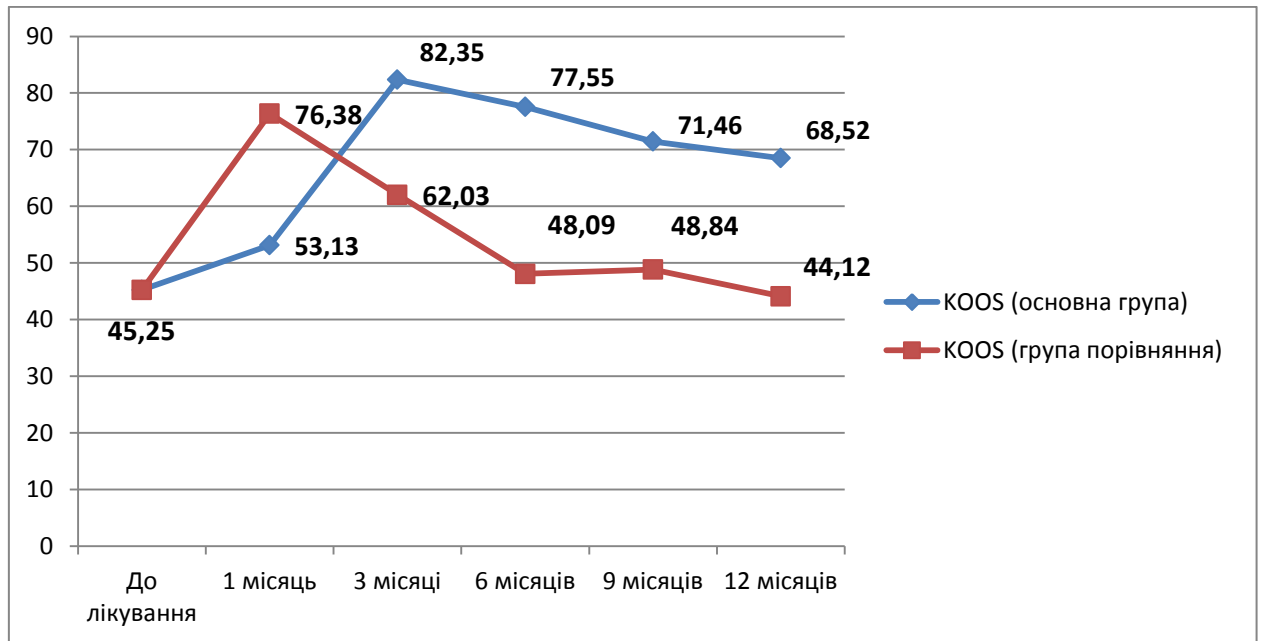


Рис.5.9. Результати лікування.

Таким чином, комплексне лікування ОА колінних суглобів 1-3 ст за Kellgren-Lawrence за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми, концентрату червоного кісткового мозку та препаратів гіалуронової кислоти є ефективним та безпечним. Перспективним є подальша розробка диференційного підходу до лікування різних фенотипів ОА.

Спираючись на дані клінічні результати можна стверджувати, що розроблена схема лікування – це сучасна регенеративна терапія, яка допомагає відновити ушкодженні ділянки опорно-рухової системи за рахунок впливу збалансованого комплексу мезенхімальних стовбурових клітин, факторів росту, цитокінів. Вироблений алгоритм виготовлення та застосування ВМАС є безпечним та раціональним.



## 5.4. Клінічні приклади

### Клінічний приклад №1

Пацієнт К. 28 років, професійний баскетболіст. Скарги на біль та порушення функції лівого колінного суглоба відмічає близько 2-х років. Про травму не повідомляє. Лікувався консервативно. Динаміка негативна.

Діагноз: Горизонтальний розрив медіального меніска, пошкодження хряща латерального виростка великогомілкової кістки 2-3 ст за Оутербридж, пошкодження хряща блоку стегна 3-4 ст за Оутербридж лівого колінного суглоба.

При огляді: помірний набряк лівого колінного суглоба. Біль при пальпації лівого колінного суглоба по медіальній поверхні суглобової щілини. Активні і пасивні рухи повні, біль в крайніх амплітудах. Позитивні симптоми Байкова, МакМюррей, Цолена. Біль при пресії наколінника. Обстежений МРТ лівого колінного суглоба на томографі 1.5 Тесла без контрасту.



Рис. 5.11. Сагітальний зріз МРТ, режим PD TSE FS. 1 – лінійне пошкодження заднього рогу медіального меніска, що продовжується до капсули. 2 – передній ріг медіального меніска. В нормі передній ріг медіального меніска менший приблизно вдвічі.



Рис. 5.12. Фронтальний зріз МРТ, режим PD TSE FS. 1 – складне пошкодження заднього рогу/тіла медіального меніска, що продовжується до капсули. 2 – трабекулярний набряк медіального виростка великогомілкової кістки. Біла вертикальна лінія проведена по краю великогомілкової кістки і

демонструє відсутність екструзії меніска.

У плановому порядку 12.10.2018 р. виконано хірургічне втручання: Артроскопія лівого колінного суглоба: парціальна резекція та шов медіального меніска, дебрідмент зон пошкодження хряща.

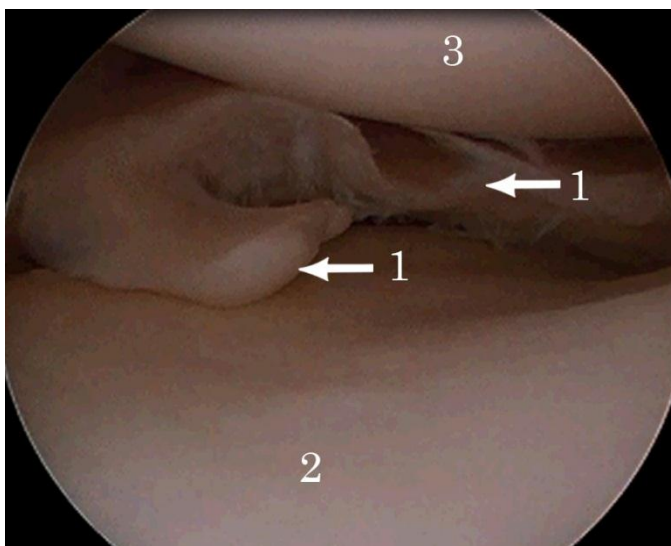


Рис. 5.13. Артроскопія лівого колінного суглоба. 1 – пошкоджені ділянки меніска по «білій зоні», які не «здатні» до зрощення і потребують резекції. 2 – хрящ медіального виростка великогомілкової кістки. 3 – хрящ медіального виростка стегнової кістки.

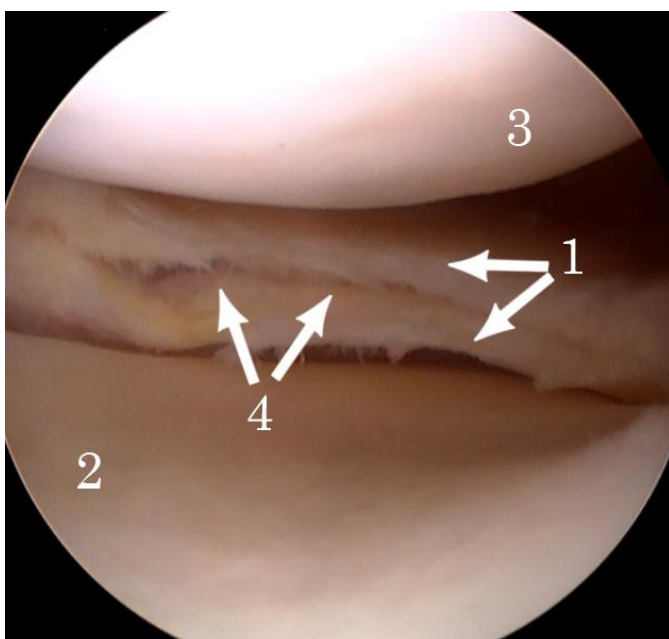


Рис. 5.14. Артроскопія лівого колінного суглоба. Після етапу дебрідмента нежиттєздатних тканини. 1 – два «листки» меніска. 2 – хрящ медіального виростка великогомілкової кістки. 3 – хрящ медіального виростка стегнової кістки. 4 – зона горизонтального пошкодження.

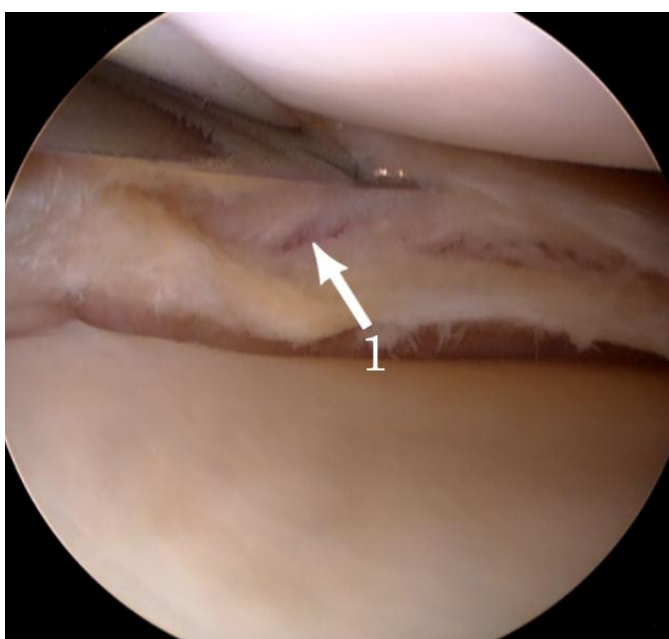


Рис. 5.15. Артроскопія лівого колінного суглоба. 1 - вигляд тканини меніска в зоні пошкодження після проведеного дебрідмента.

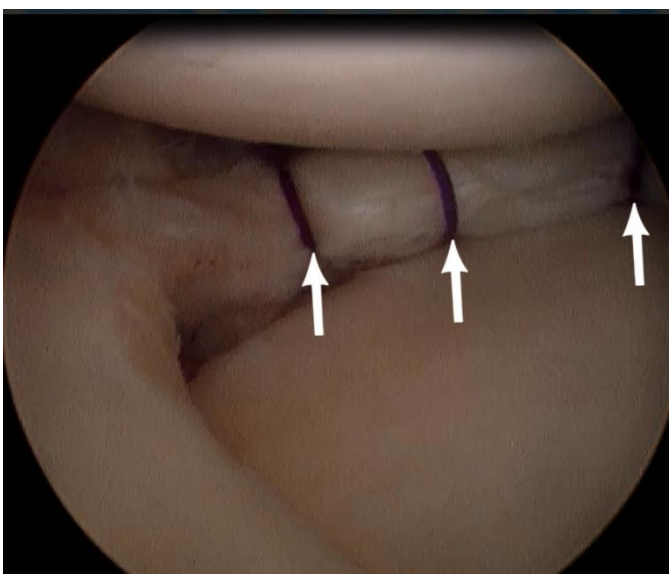


Рис. 5.16. Артроскопія лівого колінного суглоба. Вигляд меніска після накладання швів. Стрілками указано шви (Vicryl №1 Поліглактин 910 ETHICON)

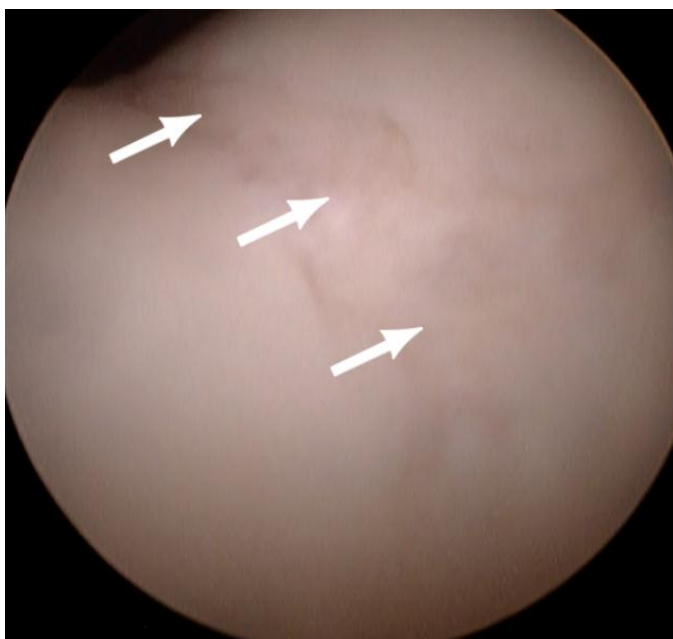


Рис. 5.17. Артроскопія лівого колінного суглоба. Стрілками указано зону пошкодження хряща блоку стегна до проведення дебрідмента.

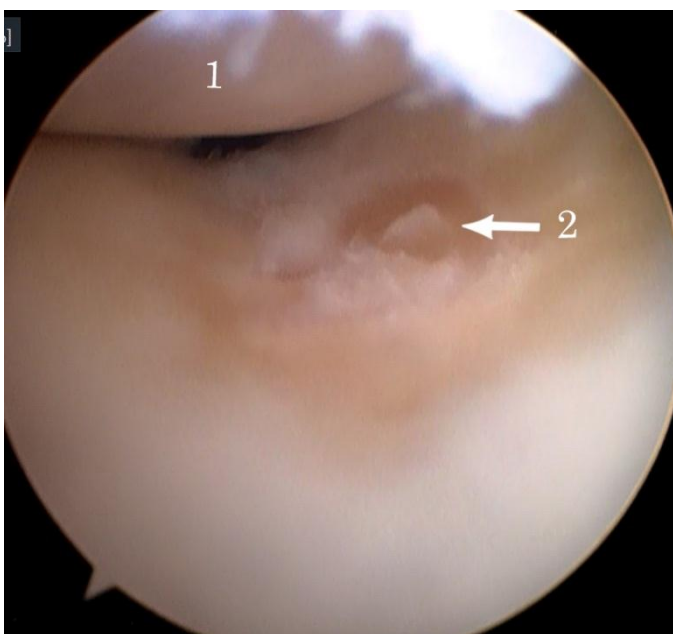


Рис. 5.18. Артроскопія лівого колінного суглоба. 1 – хрящ наколінника. 2 – ділянка пошкодження хряща блоку стегна після виконання економного дебрідмента з допомогою шейвера – пошкодження хряща 4 ст. за Оутербридж (розмір ділянки пошкодження близько 3 см<sup>2</sup>).

Післяопераційний період протікав без ускладнень. Шви зняті на 14-ту добу після операції.

Далі виконано внутрішньосуглобові ін'єкції під ультразвуковим контролем відповідно до методик описаних в попередніх розділах:

Через 3 тижні після операції - bone marrow aspirate concentrate

Через 6 тижні після операції - platelet rich plasma

Через 9 тижні після операції - platelet rich plasma

Через 12 тижні після операції – препарат гіалуронової кислоти (ПроФЛЕКС ІНТРА 20 мг / мл (3 мл) Delta Medical Promotions AG)

Паралельно пацієнт проходив курс фізичної реабілітації та апаратної фізіотерапії (магнітотерапія, міостимуляція).

Через 6 місяців після операції – повне відновлення, повернення до спортивних навантажень, відсутність скарг та повна функція колінного суглоба.

Через 9 місяців після операції – травма під час гри в баскетбол. Обстежений - контрольне МРТ 1.5 Тесла без контрасту. Ознаки травматичного пошкодження заднього рогу латерального меніска.

14.07.2019 р. – Ревізійна артроскопія лівого колінного суглоба: крайова парціальна резекція заднього латерального меніска.

Під час ревізійної артроскопії можливість провести об'єктивну оцінку шва медіального меніска та ділянок пошкодження хряща.

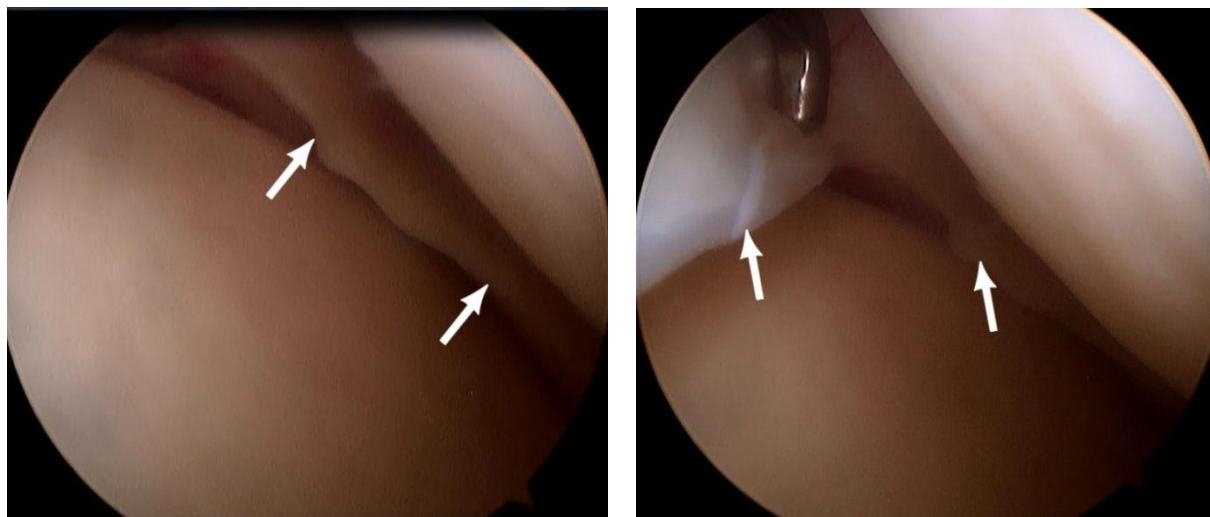


Рис. 5.19. Ревізійна артроскопія лівого колінного суглоба. Стрілками указано медіальний меніск після регенерації.

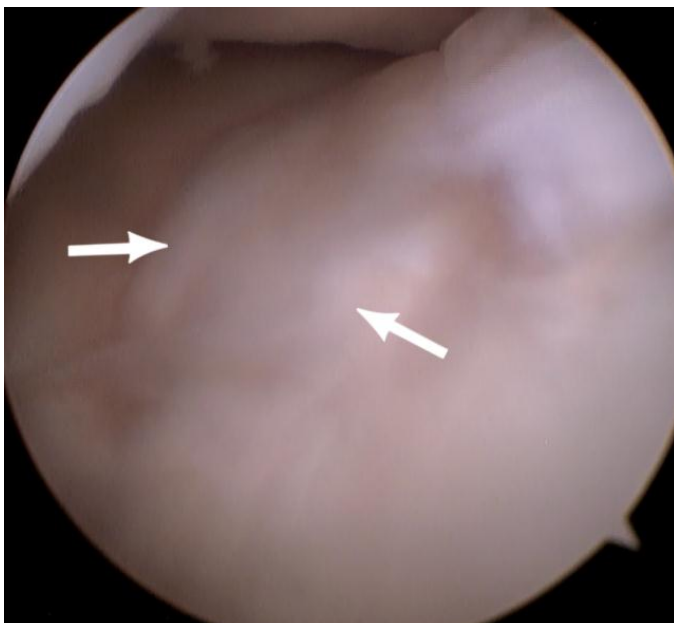


Рис. 5.20. Ревізійна артроскопія лівого колінного суглоба. Стрілками указано фіброзний регенерат в зоні пошкодження хряща блоку стегна.

Через 6 тижнів після операції – повне відновлення, повернення до спортивних навантажень, відсутність скарг та повна функція колінного суглоба.

## Клінічний приклад №2

Пацієнт К. 28 років, професійний баскетболіст. Скарги на біль та порушення функції правого колінного суглоба, які відмічає декілька років. Близько восьми років тому парціальне видалення медіального меніска. Численні травми обох колінних суглобів. Лікувався консервативно. Динаміка негативна.

Діагноз: Остеоартрит 2 ст., розрив тіла латерального меніска, стан після парціальної резекції медіального меніска, пошкодження хряща латерального виростка стегнової кістки 4 ст. за Оутербридж, пошкодження хряща латерального виростка великогомілкової кістки 2 ст. за Оутербридж, згинальна контрактура правого колінного суглоба

При огляді: П/о рубці без особливостей. Помірний набряк правого колінного суглоба. Біль при пальпації правого колінного суглоба по зовнішній поверхні суглобової щілини. Активні і пасивні рухи обмежені – згинальна контрактура близько 3-5 градусів, біль в крайніх амплітудах. Позитивні симптоми Байкова, МакМюррей, Цолена. Біль при пресії наколінника. Обстежений МРТ правого колінного суглоба на томографі 1.5 Тесла без контрасту.

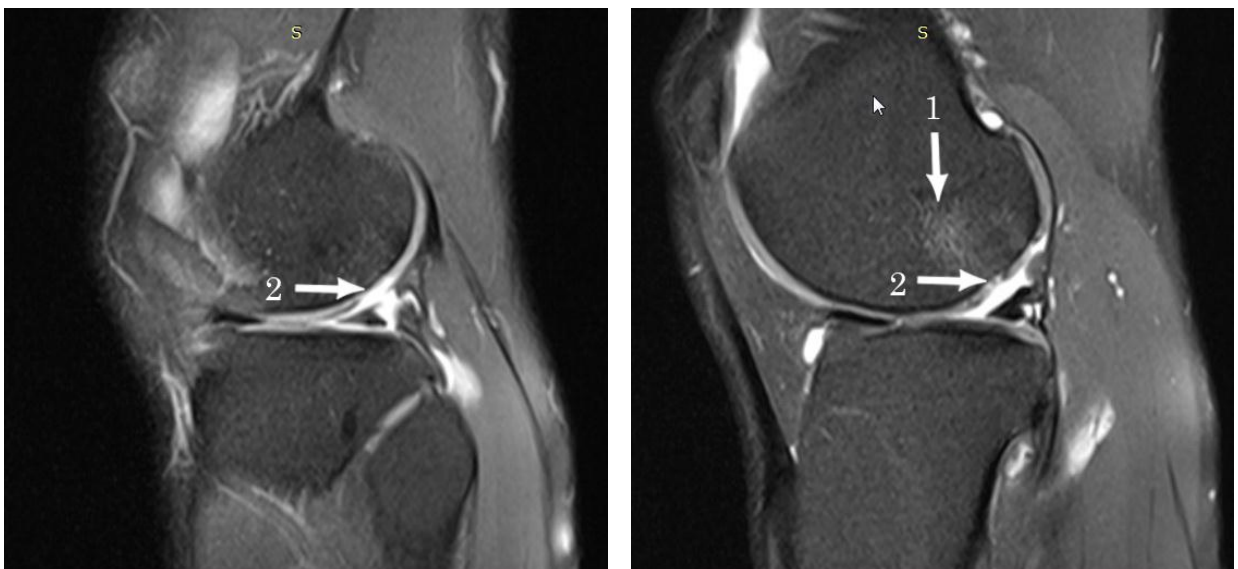


Рис. 5.21. Сагітальні зрізи МРТ, режим PD TSE FS. 1 – трабукулярний набряк латерального виростка стегнової кістки. 2 – ділянки пошкодження хряща 4 ст. за Оутербридж на латеральному виростку стегна.

У плановому порядку 26.11.2018 р. виконано хірургічне втручання: Артроскопія правого колінного суглоба: шов латерального меніска, резекція екзостозних розростань, дебрідмент ділянок пошкодження хряща.



Рис. 5.22. Артроскопія правого колінного суглоба. Стрілками позначено частини латерального меніска, що провокували хронічне пошкодження хряща латерального компартмента.

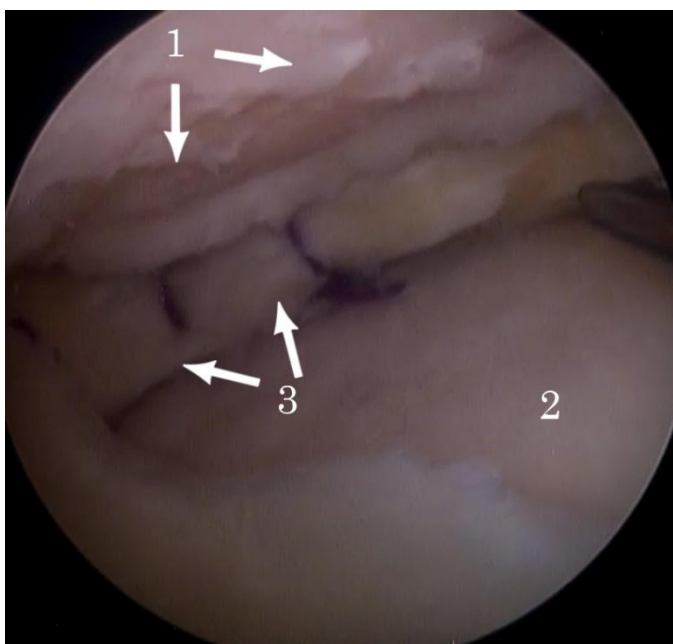


Рис. 5.23. Артроскопія правого колінного суглоба.

1 - пошкодження хряща латерального виростка стегна 4 ст. за Оутербрідж після дебрідмента (розмір ділянки пошкодження близько 3 см<sup>2</sup>).

2 – хрящ латерального виростка великогомілкової кістки

3 – латеральний меніск після виконання шва

Післяопераційний період протікав без ускладнень. Шви зняті на 14-ту добу після операції.

Далі виконано внутрішньосуглобові ін'єкції під ультразвуковим контролем відповідно до методик описаних в попередніх розділах:



Через 3 тижні після операції - bone marrow aspirate concentrate

Через 6 тижні після операції - platelet rich plasma

Через 9 тижні після операції - platelet rich plasma

Через 12 тижні після операції – препарат гіалуронової кислоти (ПроФЛЕКС ІНТРА 20 мг / мл (3 мл) Delta Medical Promotions AG)

Паралельно пацієнт проходив курс фізичної реабілітації та апаратної фізіотерапії (магнітотерапія, міостимуляція).

Через 6 місяців після операції – повне відновлення, повернення до спортивних навантажень, відсутність скарг та повна функція колінного суглоба.

В травні 2021 року – травма під час гри в баскетбол. Скарги на біль по внутрішній поверхні колінного суглоба, біль підсилюється при присіданні, при ходьбі по сходах вниз. Біль при пальпації суглобової щілини з медіального боку. Позитивні симптоми Байкова, МакМюррей.

Обстежений МРТ правого колінного суглоба на томографі 1.5 Тесла без контрасту, де діагностовано пошкодження медіального меніска та утворення фіброзного регенерату хряща.



Рис. 5.24. Сагітальні зрізи МРТ, режим PD TSE FS. В порівнянні з попереднім МРТ обстеженням від 28.10.2018 р. визначається зменшення набряку кісткового мозку задніх відділів латерального виростку стегнової

кістки. 1 – візуалізується чіткий однорідний контур фіброзного регенерату хряща.

11.06.2021 – виконано оперативне втручання: Ревізійна артроскопія правого колінного суглоба: парціальна резекція медіального меніска, інцизуоупластка, дебрідмент, реліз медіальної колатеральної зв'язки.

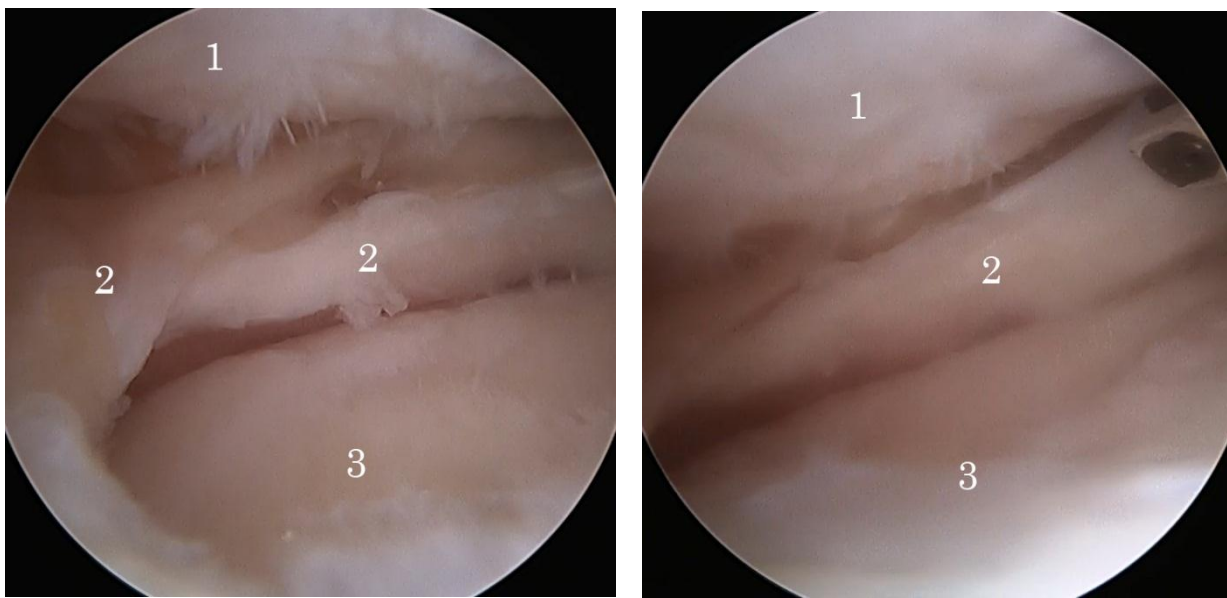


Рис. 5.25. Ревізійна артроскопія правого колінного суглоба. 1 - фіброзний регенерат хряща латерального виростка стегна. 2 - регенерат латерального меніска. 3 - хрящ латерального виростка великогомілкової кістки.

Через 6 тижнів після операції – повне відновлення, повернення до спортивних навантажень, відсутність скарг та повна функція колінного суглоба.

## ВИСНОВКИ

- 1) Розроблений фаст-алгоритм діагностики та лікування остеоартриту колінного суглоба, що розподіляє пацієнтів на 4 фенотипи: остеоартрит інтенсивних фізичних навантажень, ранній «механічний» остеоартрит, пателофеморальний остеоартрит, пізній персистуючий «запальний» остеоартрит. До даних фенотипів відноситься 82.3% від загальної кількості пацієнтів з остеоартритом. В залежності від фенотипу рекомендується диференційований підхід до використання регенеративних технологій.
- 2) Два різні способи обробки крові дають збагачену тромбоцитами плазму з різною концентрацією тромбоцитів та лейкоцитів. При центрифугуванні у пробірці типу Falcon та ручним забором багатого шару - концентрація тромбоцитів  $429,38 (+79,92) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $0,85 (+0,34) \cdot 10^9/\text{л}$ . При центрифугуванні у модифікованій шприц-пробірці та закритим вакуумним забором багатого шару концентрація тромбоцитів  $541,15 (+85,49) \cdot 10^9/\text{л}$  та лейкоцитів  $6,56 (+1,92) \cdot 10^9/\text{л}$  ( $P < 0.05$ ). Використовуючи в клінічній практиці збагачену тромбоцитами плазму з низькою концентрацією лейкоцитів, реакція-відповідь помірна з переважанням анаболічних процесів, використовуючи збагачену тромбоцитами плазму з високою концентрацією лейкоцитів, реакція-відповідь бурхлива з переважанням катаболічних процесів.
- 3) Розроблені кістковомозкова голка EBM (easy bone marrow) та шприц-пробірка, покращують процес забору червоного кісткового мозку та утворення концентрату червоного кісткового мозку. Міліметрова шкала на стилеті голки забезпечує контроль глибини, додаткові бічні отвори впливають на клітинний склад кісткового мозку, а ергономіка ручки та подвійні замки - на безпечність процедури аспірації. Шприц-пробірка дозволяє уникнути контакту

аспірата червоного кісткового мозку з навколишнім середовищем та покращує клітинний склад концентрату червоного кісткового мозку.

- 4) В експерименті на тваринах виявлено ефективність використання етапного використання збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку при моделюванні остеоартриту. У групі 3 щільність хондроцитів була більшою від групи 2 на 43,6% ( $P < 0,05$ ), а у групі 4 – на 46,8% ( $P < 0,05$ ). Тобто дистрофічні зміни хондроцитів у перифокальній зоні суглобового хряща стегнової кістки були меншими після ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми і концентрату аспірата кісткового мозку. Відносна щільність кісткової тканини у групах 3 і 4 візуально була більшою порівняно з групою 2 (57,7% і 50,1% проти 36,2%,  $P > 0,05$ ). У групі 4 встановлено більшу товщину гіалінового хряща великогомілкової кістки на 23,1% ( $P < 0,05$ ) порівняно до групи 2.
- 5) Поєднане етапне використання концентрату червоного кісткового мозку, збагаченої тромбоцитами плазми та препаратів гіалуронової кислоти доцільно інтегрувати у комплексне лікування пацієнтів з остеоартритом колінних суглобів. Дані внутрішньосуглобові ін'єкції не можуть поєднуватись з використанням протизапальних засобів та на пізніх стадіях остеоартриту.
- б) Лікування хворих з остеоартритом колінних суглобів за стандартним протоколом та з використанням регенеративних технологій дає різні клінічні результати. У пацієнтів з остеоартритом з використанням стандартного протоколу лікування виражений короткотерміновий ефект, проте швидко клінічна та функціональна картина погіршується, що може свідчити про прогресування остеоартриту. На початку лікування показник KOOS в групі порівняння складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 76.38 ( $\pm 11,55$ ), 3 міс. - 62.03 ( $\pm 9,42$ ), 6 міс. - 48.09 ( $\pm 7,12$ ), 9 міс. - 48.84 ( $\pm 6,32$ ) і 12 міс. - 44.12 ( $\pm 5,56$ ) ( $P < 0,05$ ). В основній дослідній групі

за рахунок регенеративного впливу внутрішньосуглобових ін'єкцій ВМАС, PRP та НА - виражений клінічний та функціональний ефект від лікування з'являвся через три місяці і залишався стійким в терміні спостереження до 12 місяців. На початку лікування KOOS складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 53.13 ( $\pm 7,52$ ), 3 міс. - 82.35( $\pm 10,15$ ), 6 міс. - 77.55 ( $\pm 9,52$ ), 9 міс. - 71.46 ( $\pm 10,66$ ) і 12 міс. - 68.52 ( $\pm 8,87$ ) ( $P < 0,05$ ).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

- 1) Використовувати фаст-алгоритм діагностики та лікування остеоартриту колінного суглоба, що сформований на основі 4 фенотипів: остеоартрит інтенсивних фізичних навантажень, ранній «механічний» остеоартрит, пателофemorальний остеоартрит, пізній персистуючий «запальний» остеоартрит.
- 2) При інтеграції регенеративних технологій в стандартні схеми лікування остеоартрититу розділяти в часі з використанням нестероїдних протизапальних препаратів на 7 днів, глюкокортикостероїдів на 21 день.
- 3) При лікуванні хворих з остеоартритом та пошкодженнями хряща великих суглобів використовувати комплекс внутрішньосуглобових ін'єкцій під ультразвуковим контролем за наступною схемою:

Bone marrow aspirate concentrate;

Через 3 тижні - platelet rich plasma;

Через 6 тижнів - platelet rich plasma;

Через 9 тижнів - препарат гіалуронової кислоти.

- 4) При використанні збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку в клінічній практиці дотримуватись принципів рекомендованих FDA, направлених на мінімальні маніпуляції з біологічними продуктами та їх гомологічне використання.
- 5) Диференційно підходити до способів обробки крові для отримання PRP чи L-PRP в залежності від поставлених клінічних задач.
- 6) При остеоартриті колінного суглоба 3-4 ст. за Kellgren-Lawrence рекомендувати пацієнтам тотальне ендопротезування колінного суглоба. При наявності протипоказань чи відмові пацієнта від

ендопротезування можливе комплексне консервативне лікування після  
детального індивідуального пояснення пацієнту природи  
захворювання, ризиків та шансів на клінічне покращення.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

- 1) Litwic A, Edwards MH, Dennison EM, Cooper C. Epidemiology and burden of osteoarthritis. *Br Med Bull*. 2013;105:185–99. doi: 10.1093/bmb/lds038.
- 2) Шуба В.Й. Сучасний стан питання епідеміології остеоартрозу. *Grail of Science*, (17), 447–452. <https://doi.org/10.36074/grail-of-science.22.07.2022.076>
- 3) Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part 2. *Arthritis Rheum* 2008;58:26–35
- 4) Altman 1990. Altman R, Alarcon G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K, et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hand. *Arthritis and Rheumatism*. 1990;33(11):1601–10.
- 5) Долгополов, О.В., Полішко, В.П., Ярова, М.Л. (2019) Епідеміологія захворювань кістково-м'язової системи в Україні за період 1993-2017 рр. *Вісник ортопедії, травматології та протезування*, 4, 101-108. DOI: 10.37647/0132-2486-2019-103-4-96-104.
- 6) Solomon 2001. Solomon L. Clinical features of osteoarthritis. In: Ruddy S, Harris ED, Sledge CB, editors. *Kelly's Textbook of Rheumatology*. 6. Vol. 2. Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. pp. 1409–18.
- 7) Галушко Е.А. Медико-соціальна значимість ревматических захворювань: дисс. канд. мед. наук. – М., 2011. – 204 с
- 8) Di Martino A, Kon E, Perdisa F, Sessa A, Filardo G, Neri MP, Bragonzoni L, Marcacci M. Surgical treatment of early knee osteoarthritis with a cell-free osteochondral scaffold: results at 24 months of follow-up. *Injury*. 2015;46(Suppl 8):S33–8. doi: 10.1016/S0020-1383(15)30052-8.
- 9) Kon E, Filardo G, Drobic M, Madry H, Jelic M, van Dijk N, Della Villa S. Non-surgical management of early knee osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012;20:436–49. doi: 10.1007/s00167-011-1713-8.



- 10) Mooney V: Prolotherapy at the fringe of medical care, or is it the frontier? *Spine J* 3:253-254, 2003
- 11) Sampson S, Botto-van Bemden A, Aufiero D. Autologous bone marrow concentrate: review and application of a novel intra-articular orthobiologic for cartilage disease. *Phys Sportsmed*. 2013 Sep;41(3):7-18. doi: 10.3810/psm.2013.09.2022. Review.
- 12) Mautner K, Malanga GA, Smith J, Shiple B, Ibrahim V, Sampson S, Bowen JE. A call for a standard classification system for future biologic research: the rationale for new PRP nomenclature. *PM R*. 2015 Apr;7(4 Suppl):S53-9. doi: 10.1016/j.pmrj.2015.02.005. Review. PMID:25864661
- 13) *BMJ Open Sport Exerc Med*. 2016 Feb 4;2(1):e000060. eCollection 2016. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. Magalon J, Chateau AL, Bertrand B, Louis ML, Silvestre A, Giraud L, Veran J, Sabatier F.
- 14) Hunter DJ, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet*. 2019;393:1745–59. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30417-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30417-9).
- 15) Hunter DJ, March L, Chew M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a Lancet Commission. *Lancet*. 2020;396:1711–2. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32230-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32230-3).
- 16) GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020;396:1204–22. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9).
- 17) Vos T, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380:2163–96. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61729-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61729-2).

- 18) Kon E, Filardo G, Marcacci M. Early osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20:399–400. <https://doi.org/10.1007/s00167-011-1858-5>
- 19) Колінний суглоб (променева анатомія, методи дослідження, променева діагностика захворювань і травматичних ушкоджень) / М.І. Спужак, О.П. Шармазанова, Р.Я. Абдуллаєв [та ін.]. – Донецьк: Видавець О.Ю. Заславський, 2011. – 208 с
- 20) Cervini C. J'artrosi terminologia // R. Margolongo, J'artrosi. — Milan: Realizzazioni scientifiche, 1996. — P. 15-19.
- 21) Коваленко В.М., Борткевич О.П. Остеоартроз. Практична настанова. — 3-тє вид., допов., зі змінами. — К.: МОПІОН, 2010. — 608 с.: іл. — Бібліогр.: с. 551–605.
- 22) <https://icd.who.int/browse10/2019/en#/M15-M19>
- 23) Малая медицинская энциклопедия. — М.: Медицинская энциклопедия. 1991—96 гг.
- 24) Mankin H J, Brandt KD & Shulman LE (1986) Workshop on the etiopathogenesis of osteoarthritis. Proceedings and recommendations. *Journal of Rheumatology* 13:1127-1160.
- 25) Kuttner K, Goldberg VM. Osteoarthritis disorders Rosemount. In *American Academy of, Orthopedic Surgeons* 1995 (pp. 21-25).
- 26) Osteoarthritis Cartilage. 2015 Apr 9. pii: S1063-4584(15)00899-7. doi:10.1016/j.joca.2015.03.036.
- 27) Kolasinski, S.L., Neogi, T., Hochberg, M.C., Oatis, C., (2020), 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Management of Osteoarthritis of the Hand, Hip, and Knee. *Arthritis Rheumatol*, 72: 220-233. <https://doi.org/10.1002/art.41142>
- 28) National Clinical Guideline Centre (UK). Osteoarthritis: Care and Management in Adults. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2014 Feb. PMID: 25340227.

- 29) Musumeci G, Aiello FC, Szychlinska MA, et al. Osteoarthritis in the XXIst century: risk factors and behaviours that influence disease onset and progression. *Int J Mol Sci* 2015;16(3):6093–112.
- 30) Ali M, Batt M. An update on the pathophysiology of osteoarthritis. *Ann Phys Rehabil Med* 2016;333–9. <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2016.07.004>.
- 31) Felson D.T. Osteoarthritis of the knee. *N. Engl. J. Med.* 2006;354:841–848.
- 32) Berenbaum F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthr Cartil* 2013;16–21. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.11.012>.
- 33) Yusuf E, Nelissen RG, Ioan-Facsinay A, et al. Association between weight or body mass index and hand osteoarthritis: a systematic review. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(4):761–5.
- 34) Berenbaum F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!). *Osteoarthr Cartil* 2013;16–21. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.11.012>.
- 35) Loeser Richard F. Aging and osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2011;492–6. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e3283494005>.
- 36) Gregory MH, Capito N, Kuroki K, Stoker AM, Cook JL, Sherman SL. A review of translational animal models for knee osteoarthritis. *Arthritis*. 2012;2012:764621. doi:10.1155/2012/764621
- 37) Englund M. The role of biomechanics in the initiation and progression of OA of the knee // *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* — 2010. — V. 24, № 1. — P. 39-46.
- 38) Tochigi Y, Vaseenon T, Heiner AD, Fredericks DC, Martin JA, Rudert MJ, Hillis SL, Brown TD, McKinley TO. Instability dependency of osteoarthritis development in a rabbit model of graded anterior cruciate ligament transection. *J Bone Joint Surg Am.* 2011 Apr 6;93(7):640-7. doi: 10.2106/JBJS.J.00150. PMID: 21471417; PMCID: PMC3064002.

- 39) Florea C, Malo MK, Rautiainen J, Mäkelä JT, Fick JM, Nieminen MT, Jurvelin JS, Davidescu A, Korhonen RK. Alterations in subchondral bone plate, trabecular bone and articular cartilage properties of rabbit femoral condyles at 4 weeks after anterior cruciate ligament transection. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015 Mar;23(3):414-22. doi: 10.1016/j.joca.2014.11.023. Epub 2014 Dec 3. PMID: 25479166.
- 40) Mustonen, AM., Käkälä, R., Finnilä, M.A.J. et al. Anterior cruciate ligament transection alters the n-3/n-6 fatty acid balance in the lapine infrapatellar fat pad. *Lipids Health Dis* 18, 67 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1008-5>
- 41) Tkachuk, P., Strafun, S., Kumchenko, O., Savosko, S., Gayevich, I., Makarenko, O., Mkhitaryan, L., & Drobotko, T. (2021). Assessment of the effect of platelet plasma on blood biochemical parameters in an experimental model of knee osteoarthritis. *TRAUMA*, 20(4), 39–45. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.4.20.2019.178744>
- 42) Tkachuk, P., Strafun, S., Savosko, S., & Makarenko, O. (2021). Study of structural features in the experimental chronic knee osteoarthritis in rabbits. *TRAUMA*, 19(6), 71–76. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.6.19.2018.152223>
- 43) Helito CP, Bonadio MB, Sobrado MF, et al. Comparison of Floseal® and Tranexamic Acid for Bleeding Control after Total Knee Arthroplasty: a Prospective Randomized Study. *Clinics (Sao Paulo)*. 2019;74:e1186. Published 2019 Nov 25. doi:10.6061/clinics/2019/e1186
- 44) Rughetti A, Giusti I, D'Ascenzo S, Leocata P, Carta G, Pavan A, Dell'Orso L, Dolo V. Platelet gel-released supernatant modulates the angiogenic capability of human endothelial cells. *Blood Transfus* 2008; 6 (1): 12–7.
- 45) Fleming B C, Proffen B L, Vavken P, Shalvoy M R, Machan J T, Murray M M. Increased platelet concentration does not improve functional

- graft healing in bio-enhanced ACL reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2015; 23 (4): 1161–70.
- 46) Campbell K A, Saltzman B M, Mascarenhas R, Khair M M, Verma N N, Bach B R Jr., Cole B J. Does intra-articular platelet-rich plasma injection provide clinically superior outcomes compared with other therapies in the treatment of knee osteoarthritis? A systematic review of overlapping meta-analyses. *Arthroscopy* 2015; 31 (10): 2036–45.
- 47) Moatshe G, Morris ER, Cinque ME, et al. Biological treatment of the knee with platelet-rich plasma or bone marrow aspirate concentrates. *Acta Orthop.* 2017;88(6):670–674. doi:10.1080/17453674.2017.1368899
- 48) Krych A J, Nawabi D H, Farshad-Amacker N A, Jones K J, Maak T G, Potter H G, Williams R J 3rd. Bone marrow concentrate improves early cartilage phase maturation of a scaffold plug in the knee: A comparative magnetic resonance imaging analysis to platelet-rich plasma and control. *Am J Sports Med.* 2016; 44(1): 91–8.
- 49) Liu Z, Hu X, Man Z, Zhang J, Jiang Y, Ao Y. A novel rabbit model of early osteoarthritis exhibits gradual cartilage degeneration after medial collateral ligament transection outside the joint capsule. *Sci Rep.* 2016;6:34423. Published 2016 Oct 19. doi:10.1038/srep34423
- 50) Midwood K. S., Williams L. V., Schwarzbauer J. E. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36:1031–1037.
- 51) Zhang J., Wang J. H. Platelet-rich plasma releasate promotes differentiation of tendon stem cells into active tenocytes. *Am J Sports Med.* 2010;38:2477–2486.
- 52) Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:529–535

- 53) Whitman D. H., Berry R. L., Green D. M. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55:1294–1299.
- 54) Castillo T. N., Pouliot M. A., Kim H. J., Dragoo J. L. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med.* 2011;39:266–271.
- 55) Moojen DJ, Everts PA, Schure RM, Overdeest EP, van Zundert A, Knappe JT, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *J Orthop Res.* 2008;26:404–10. doi: 10.1002/jor.20519.
- 56) Wrotniak M, Bielecki T, Gazdzik TS. Current opinion about using the platelet-rich gel in orthopaedics and trauma surgery. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2007;9:227–38
- 57) McCarrel TM, Minas T, Fortier LA. Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94:e143. doi: 10.2106/JBJS.L.00019.
- 58) Yiqin Zhou, Jianying Zhang, Haishan Wu, MaCalus V. Hogan, James H-C. Wang 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; 6(1): 173. Published online 2015 Sep 15.
- 59) 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. PMID: 22738751.
- 60) Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. *Cell Stem Cell.* 2011 Jul 08;9 (1):11-5. Epub 2011 Jul 6.
- 61) Castillo TN, Pouliot MA, Kim HJ, Dragoo JL. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med.* 2011 Feb;39(2):266-71. Epub 2010 Nov 4.

- 62) Kiapour AM, Murray MM. Basic science of anterior cruciate ligament injury and repair. *Bone Joint Res.* 2014 Feb 04;3(2):20-31.
- 63) Lee, J. C., Min, H. J., Park, H. J., Lee, S., Seong, S. C., & Lee, M. C. (2013). Synovial membrane–derived mesenchymal stem cells supported by platelet-rich plasma can repair osteochondral defects in a rabbit 163 model. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 29(6), 1034-1046. doi: 10.1016/j.arthro.2013.02.026
- 64) Muschler G, Boehm C, Easley K. Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow: the influence of aspiration volume. *J Bone Joint Surg [Am]* 1997;79-A:1699–709.
- 65) Sell S (16 August 2013). *Stem Cells Handbook*. Springer Science & Business Media. p. 143. ISBN 978-1-4614-7696-2.
- 66) Becker AJ, McCulloch EA, Till JE (February 1963). "Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells". *Nature*. 197 (4866): 452–4. Bibcode:1963Natur.197..452B. doi:10.1038/197452a0. hdl:1807/2779. PMID 13970094. S2CID 11106827.
- 67) Siminovitch L, McCulloch EA, Till JE (December 1963). "The distribution of colony-forming cells among spleen colonies". *Journal of Cellular and Comparative Physiology*. 62 (3): 327–36. doi:10.1002/jcp.1030620313. hdl:1807/2778. PMID 14086156.
- 68) Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa SF, Luriá EA, Ruadkow IA (1974). "Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method". *Experimental Hematology*. 2 (2): 83–92. PMID 4455512.
- 69) Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN (September 1976). "Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs". *Experimental Hematology*. 4 (5): 267–74. PMID 976387.

- 70) Wang S, Qu X, Zhao RC (April 2012). "Clinical applications of mesenchymal stem cells". *Journal of Hematology & Oncology*. 5: 19. doi:10.1186/1756-8722-5-19. PMC 3416655. PMID 22546280.
- 71) Guimarães-Camboa N, Cattaneo P, Sun Y et al. Pericytes of multiple organs do not behave as mesenchymal stem cells in vivo. *Cell Stem Cell* 2017; 20: 1– 15.
- 72) Deasy BM, Gharaibeh BM, Pollett JB et al. Long-term self-renewal of postnatal muscle-derived stem cells. *Mol Biol Cell* 2005; 16: 3323– 3333.
- 73) Tao H, Han Z, Han ZC et al. Proangiogenic features of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Stem Cells Int* 2016;2016: 1314709.
- 74) Overturf K, al-Dhalimy M, Ou CN et al. Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. *Am J Pathol* 1997; 151: 1273– 1280.
- 75) Scott Schachtele, Ph.D., Christine Clouser, Ph.D., and Joy Aho, Ph.D. Markers and Methods to Verify Mesenchymal Stem Cell Identity, Potency, and Quality <https://www.rndsystems.com/resources/articles/markers-and-methods-verify-mesenchymal-stem-cell-identity-potency-and-quality>
- 76) Friedenstein, A.J. et al. (1970) *Cell Tissue Kinet.* 3:393.
- 77) Friedenstein, A.J. et al. (1968) *Transplantation* 6:230.
- 78) Caplan, A.I. (1991) *J. Orthop. Res.* 9:641.
- 79) Dennis, J.E. et al. (1999) *J. Bone Miner. Res.* 14:700.
- 80) Bianco, P. & P. Gheron Robey (2000) *J. Clin. Invest.* 105:1663.
- 81) Jiang, Y. et al. (2002) *Nature* 418:41.
- 82) Dominici, M. et al. (2006) *Cytotherapy* 8:315.
- 83) Caplan, A.I. (2010) *Tissue Engin. Part A* 16:2415.
- 84) Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop Dj, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society



- for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-7. doi: 10.1080/14653240600855905. PMID: 16923606.
- 85) Bianco, P. et al. (2013) *Nat. Med.* 19:35.
- 86) Afizah H, Yang Z, Hui JHP, Ouyang HW, Lee EH. A comparison between the chondrogenic potential of human bone marrow stem cells (BMSCs) and adipose-derived stem cells (ADSCs) taken from the same donors. *Tissue Eng.* 2007;13:659–666.
- 87) Alvarez-Viejo M, Menendez-Menendez Y, Blanco-Gelaz MA, et al. Quantifying mesenchymal stem cells in the mononuclear cell fraction of bone marrow samples obtained for cell therapy. *Transplant Proc.* 2013;45:434–439.
- 88) Hyer CF, Berlet GC, Bussewitz BW, Hankins T, Ziegler HL, Philbin TM. Quantitative assessment of the yield of osteoblastic connective tissue progenitors in bone marrow aspirate from the iliac crest, tibia, and calcaneus. *J Bone Joint Surg Am.* 2013;95:1312–1316.
- 89) Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science.* 1999;284:143–147. [
- 90) Veyrat-Masson R, Boiret-Dupré N, Rapatel C, et al. Mesenchymal content of fresh bone marrow: a proposed quality control method for cell therapy. *Br J Haematol.* 2007;139:312–320.
- 91) Betsch M, Schnependahl J, Thuns S, et al. Bone marrow aspiration concentrate and platelet rich plasma for osteochondral repair in a porcine osteochondral defect model. *PLoS One.* 2013;8(8):e71602.
- 92) Hegde V, Shonuga O, Ellis S, et al. A prospective comparison of 3 approved systems for autologous bone marrow concentration demonstrated nonequivalency in progenitor cell number and concentration. *J Orthop Trauma.* 2014;28(10):591–598.
- 93) *Biologics in orthopaedics I.* R. Murray, M. R. Safran, and R. F. LaPrade *Bone & Joint* 360 2018 7:6, 2-8

- 94) Murray IR , Robinson PG , West CC et al. . Reporting standards in clinical studies evaluating bone marrow aspirate concentrate: a systematic review. *Arthroscopy* 2018;34:1366-1375
- 95) Murray IR , Corselli M , Petrigliano FA , Soo C , Péault B . Recent insights into the identity of mesenchymal stem cells: implications for orthopaedic applications. *Bone Joint J* 2014;96-B:291-298
- 96) <https://guidelines.moz.gov.ua/>
- 97) <https://www.fda.gov/media/109176/download>
- 98) Hyer CF, Berlet GC, Bussewitz BW, et al. Quantitative assessment of the yield of osteoblastic connective tissue progenitors in bone marrow aspirate from the iliac crest, tibia, and calcaneus. *J Bone Joint Surg Am* 2013;95(14):1312–6
- 99) Hernigou J, Alves A, Homma Y, et al. Anatomy of the ilium for bone marrow aspiration: map of sectors and implication for safe trocar placement. *Int Orthop* 2014;38(12):2585–90
- 100) Bierman HR, Bone marrow aspiration the posterior iliac crest, an additional safe site. *Calif Med.* 1952 Aug;77(2):138-9.
- 101) Hernigou P, Homma Y, Flouzat Lachaniette CH, et al. Benefits of small volume and small syringe for bone marrow aspirations of mesenchymal stem cells. *Int Orthop* 2013;37(11):2279–87.
- 102) Muschler G, Boehm C, Easley K. Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow: the influence of aspiration volume. *J Bone Joint Surg [Am]* 1997;79-A:1699–709.
- 103) United States Patent № 3,628,524 21 Appl. No. 803,199 Filed Feb. 28, 1969 45 Patented Dec. 21, 1971
- 104) United States Patent № 5,807,275 Appl. No. 504,193 Filed: Jul.19, 1995 Date of Patent: Sep. 15, 1998
- 105) <http://www.biomedical-srl.com/?prodotto=ble>
- 106) Cassano JM, Kennedy JG, Ross KA, et al. Bone marrow concentrate and platelet-rich plasma differ in cell distribution and interleukin 1 receptor

- antagonist protein concentration. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2016. DOI 10.1007/s00167-016-3981-9
- 107) Than, Uyen & Guanzon, Dominic & Leavesley, David & Parker, Tony. (2017). Association of Extracellular Membrane Vesicles with Cutaneous Wound Healing. *International Journal of Molecular Sciences*. 18. 956. 10.3390/ijms18050956.
- 108) Olivier Bruyère, Germain Honvo, Nicola Veronese, Nigel K. Arden, Jaime Branco, Elizabeth M. Curtis, Nasser M. Al-Daghri, Gabriel Herrero-Beaumont, Johanne Martel-Pelletier, Jean-Pierre Pelletier, François Rannou, René Rizzoli, Roland Roth, Daniel Uebelhart, Cyrus Cooper, Jean-Yves Reginster 2019 ESCEO guidance position and scientific papers, Osteoarthritis An updated algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO) DOI: 10.1016/j.semarthrit.2019.04.008

## ДОДАТКИ



# БЛДЦ

Фірма «Бесарабський лікувально-діагностичний центр» - приватне підприємство  
 67770, Одеська область, Білгород - Дністровський район, с. Шабо, вул. Швейцарська 1  
 www.blzc.com.ua +380-67-77-22-575  
 Ліцензія МОЗ України № АГ 602503 від 14.07.2011 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Застосування збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку при лікуванні остеоартриту великих суглобів.

2. Ким запропонована, адреса, виконавець: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, кафедра ортопедії і травматології №1. м. Київ – 04112, вул. Кондратюка 8. МКЛ №8. Мовчан О.С., Оліфіренко О.І.

3. Джерело інформації:

Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І. Матеріали « Четверта всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування», м.Приморськ, 12-14 вересня 2019 року, «Наш досвід використання регенеративних технологій при пошкодженнях хряща великих суглобів»

Оліфіренко О.І., Мовчан О.С. Збірник наукових праць «18 з'їзд ортопедів-травматологів України» м.Івано-Франківськ 9-11 жовтня 2019 «Використання концентрату червоного кісткового мозку та збагаченої тромбоцитами плазми в ортопедії та травматології»

Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Сергієнко Р.О., Бурсук Ю.Є. Новітні регенеративні технології в лікуванні остеоартриту великих суглобів. Травма том 23 №2 2022р. с.40-46 Режим доступу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/51902>

4. Термін впровадження: 1.09.2021 – 1.09.2022

5. Загальна кількість спостережень: 25

6. Ефективність впровадження: Оцінка результатів лікування проводилась через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців з допомогою міжнародної опитувальної шкали Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), даних повторних магнітнорезонансних та рентгенологічних досліджень, а також безпосереднього макроскопічного дослідження при повторних артроскопіях.

Доведено, що стандартна методика лікування (група порівняння) пацієнтів з остеоартритом має виражений короткотерміновий ефект, проте при припиненні або зменшенні фармакологічного лікування – клінічна та функціональна картина погіршується, що може свідчити про прогресування остеоартриту. На початку лікування показник KOOS (Knee and Osteoarthritis Outcome Score) в групі порівняння складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 76.38 ( $\pm 11,55$ ), 3 міс. - 62.03 ( $\pm 9,42$ ), 6 міс. - 48.09 ( $\pm 7,12$ ), 9 міс. - 48.84 ( $\pm 6,32$ ) і 12 міс. - 44.12 ( $\pm 5,56$ ) ( $P < 0,05$ ). В основній дослідній групі за рахунок регенеративного впливу - виражений клінічний та функціональний ефект від лікування з'являвся через три місяці і залишався стійким в терміні спостереження до 12 місяців. На початку лікування KOOS складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 53.13 ( $\pm 7,52$ ), 3 міс. - 82.35 ( $\pm 10,15$ ), 6 міс. - 77.55 ( $\pm 9,52$ ), 9 міс. - 71.46 ( $\pm 10,66$ ) і 12 міс. - 68.52 ( $\pm 8,87$ ) ( $P < 0,05$ ).

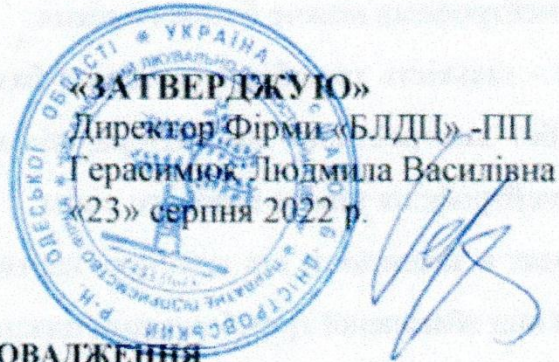
7. Зауваження, пропозиції: Рекомендується до впровадження в клінічну практику.

**Відповідальний за впровадження: завідувач відділення ортопедії і травматології, к.м.н., Герасимюк Богдан Степанович.**



# БЛДЦ

Фірма «Бесарабський лікувально-діагностичний центр» - приватне підприємство  
67770, Одеська область, Білгород - Дністровський район, с. Шабо, вул. Швейцарська 1  
www.blde.com.ua +380-67-77-22-575  
Ліцензія МОЗ України № АГ 602503 від 14.07.2011 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб центрифугування крові для отримання різних видів збагаченої тромбоцитами плазми.
  2. Ким запропонована, адреса, виконавець: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, кафедра ортопедії і травматології №1. м. Київ – 04112, вул. Кондратюка 8. МКЛ №8. Мовчан О.С., Оліфіренко О.І.
  3. Джерело інформації:  
Оліфіренко О.І., Сергієнко Р.О., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І. Некомерційні способи отримання PRP та PRP-L для клінічної практики в ортопедії та травматології. Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування» Запоріжжя-Приморськ, 2-4 вересня 2021р. с.64-65  
Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Сергієнко Р.О., Процик А.І., Остапчук Р.М. Методика отримання PRP та L-PRP для використання в повсякденній практиці лікаря ортопеда-травматолога. Травма том 22 №5 2021р. с.10-14
  4. Термін впровадження: 1.09.2021 – 1.09.2022
  5. Загальна кількість спостережень: 24
- Ефективність впровадження: Впроваджені методи центрифугування дають можливість отримати принципово різні три види збагаченої тромбоцитами плазми по RAW класифікації:

- P2-x-B $\beta$  – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і до 750 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів нижче базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.

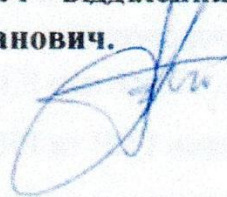
- P2-x-A $\beta$  – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і до 750 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів вище базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.

- P4-x-B $\beta$  – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і більше 1250 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів нижче базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.

Що дозволяє в залежності від клінічної картини і патології на практиці диференційно підбирати вид збагаченої тромбоцитами плазми.

6. Зауваження, пропозиції: Рекомендується до впровадження в клінічну практику.

**Відповідальний за впровадження: завідувач відділення ортопедії і травматології, к.м.н., Герасимюк Богдан Степанович.**



**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Керівник установи

(лікувального закладу, де впроваджена пропозиція)



(печатка)

« 07 »

2022 р.

*М.В. Довбенко А.І.*

М.П. «Реабілітація»

### **Акт впровадження**

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб центрифугування крові для отримання різних видів збагаченої тромбоцитами плазми.
2. Ким запропонована, адреса, виконавець: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, кафедра ортопедії і травматології №1. м. Київ – 04112, вул. Кондратюка 8. МКЛ №8. Мовчан О.С., Оліфіренко О.І.
3. Джерело інформації:

Оліфіренко О.І., Сергієнко Р.О., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І.

Некомерційні способи отримання PRP та PRP-L для клінічної практики в ортопедії та травматології. Матеріали п'ятої всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування» Запоріжжя-Приморськ, 2-4 вересня 2021р. с.64-65

Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Сергієнко Р.О., Процик А.І., Остапчук Р.М. Методика отримання PRP та L-PRP для використання в повсякденній практиці лікаря ортопеда-травматолога. Травма том 22 №5 2021р. с.10-14

4. Термін впровадження:

5. Загальна кількість спостережень: 28

Ефективність впровадження: Впроваджені методи центрифугування дають можливість отримати принципово різні три види збагаченої тромбоцитами плазми по RAW класифікації:

- P2-х-Bβ – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і до 750 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів нижче базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.
- P2-х-Aβ – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і до 750 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів вище базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.



- P4-x-B $\beta$  – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і більше 1250 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів нижче базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.

Що дозволяє в залежності від клінічної картини і патології на практиці диференційно підбирати вид збагаченої тромбоцитами плазми.

6. Зауваження, пропозиції: Рекомендується до впровадження в клінічну практику.

**Відповідальний за впровадження:**  
(установа, що впроваджує)

*Бурася Роман Євгенович*



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Керівник установи

(лікувального закладу, де впроваджена пропозиція)

(печатка)  
Акт впровадження

*Мовчан О.С.*  
*МТІІ „Забезпечення“*  
» *09* 2022 р.

1. Назва пропозиції для впровадження: Застосування збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку при лікуванні остеоартриту великих суглобів.
2. Ким запропонована, адреса, виконавець: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, кафедра ортопедії і травматології №1. м. Київ – 04112, вул. Кондратюка 8. МКЛ №8. Мовчан О.С., Оліфіренко О.І.
3. Джерело інформації:  
Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І. Матеріали « Четверта всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування», м.Приморськ, 12-14 вересня 2019 року, «Наш досвід використання регенеративних технологій при пошкодженнях хряща великих суглобів»  
Оліфіренко О.І., Мовчан О.С. Збірник наукових праць «18 з'їзд ортопедів-травматологів України» м.Івано-Франківськ 9-11 жовтня 2019 «Використання концентрату червоного кісткового мозку та збагаченої тромбоцитами плазми в ортопедії та травматології»  
Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Сергієнко Р.О., Бурсук Ю.Є. Новітні регенеративні технології в лікуванні остеоартриту великих суглобів. Травма том 23 №2 2022р. с.40-46 Режим доступу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/51902>
4. Термін впровадження:
5. Загальна кількість спостережень: 35
6. Ефективність впровадження: Оцінка результатів лікування проводилась через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців з допомогою міжнародної опитувальної шкали Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), даних повторних магнітнорезонансних та рентгенологічних досліджень, а також безпосереднього макроскопічного дослідження при повторних артроскопіях.

Доведено, що стандартна методика лікування (група порівняння) пацієнтів з остеоартритом має виражений короткотерміновий ефект, проте при припиненні або зменшенні фармакологічного лікування – клінічна та функціональна картина погіршується, що може свідчити про прогресування остеоартриту. На початку лікування показник KOOS (Knee and Osteoarthritis Outcome Score) в групі порівняння складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 76.38 ( $\pm 11,55$ ), 3 міс. - 62.03 ( $\pm 9,42$ ), 6 міс. - 48.09 ( $\pm 7,12$ ), 9 міс. - 48.84 ( $\pm 6,32$ ) і 12 міс. - 44.12 ( $\pm 5,56$ ) ( $P < 0,05$ ). В основній дослідній групі за рахунок регенеративного впливу - виражений клінічний та функціональний ефект від лікування з'являвся через три місяці і залишався стійким в терміні спостереження до 12 місяців. На початку лікування KOOS складав 45.25 ( $\pm 6,92$ ), через 1 міс. - 53.13 ( $\pm 7,52$ ), 3 міс. - 82.35 ( $\pm 10,15$ ), 6 міс. - 77.55 ( $\pm 9,52$ ), 9 міс. - 71.46 ( $\pm 10,66$ ) і 12 міс. - 68.52 ( $\pm 8,87$ ) ( $P < 0,05$ ).

7. Зауваження, пропозиції: Рекомендується до впровадження в клінічну практику.

**Відповідальний за впровадження:**  
(установа, що впроваджує)

*Бурча Роман Євгенівич*



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Керівник установи

(лікувального закладу, де впроваджена  
пропозиція)

(печатка)



2021 р.

### Акт впровадження

1. Назва пропозиції для впровадження: Кістковомозкова голка ЕВМ (easy bone marrow)
2. Ким запропонована, адреса, виконавець: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, кафедра ортопедії і травматології №1. м. Київ – 04112, вул. Кондратюка 8. МКЛ №8. Мовчан О.С., Оліфіренко О.І.
3. Джерело інформації: Мовчан О.С., Оліфіренко О.І. Кістковомозкова голка ЕВМ (easy bone marrow) Патент на винахід №
4. Термін впровадження:
5. Загальна кількість спостережень: 32  
Ефективність впровадження: Кістковомозкова голка ЕВМ (easy bone marrow), використовується для аспірації кісткового мозку з кісток тазу, кісток кінцівок та тіл хребців людини, **яка відрізняється тим, що має ергономічну ручку для надійного мануального контролю позиції, міліметрову шкалу на поверхні голки для контролю глибини занурення, додаткові бічні отвори на бічній поверхні голки, для попередження забивання і отримання якісного кісткового мозку, два дублюючі замки на пластиковій частині троакара та голки для надійної фіксації між ними.**
6. Зауваження, пропозиції: Рекомендується до впровадження в клінічну практику.

Відповідальний за впровадження:

(установа, що впроваджує)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Керівник установи

(лікувального закладу, де впроваджена пропозиція)



Директор КНП «КМКЛ №6»

О.М.Н. Крашевський В.В.

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 р.

### Акт впровадження

1. Назва пропозиції для впровадження: Застосування збагаченої тромбоцитами плазми та концентрату червоного кісткового мозку при лікуванні остеоартриту великих суглобів.

2. Ким запропонована, адреса, виконавець: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, кафедра ортопедії і травматології №1. м. Київ – 04112, вул. Кондратюка 8. МКЛ №8. Мовчан О.С., Оліфіренко О.І.

3. Джерело інформації:

Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І. Матеріали « Четверта всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування», м.Приморськ, 12-14 вересня 2019 року, «Наш досвід використання регенеративних технологій при пошкодженнях хряща великих суглобів»

Оліфіренко О.І., Мовчан О.С. Збірник наукових праць «18 з'їзд ортопедів-травматологів України» м.Івано-Франківськ 9-11 жовтня 2019 «Використання концентрату червоного кісткового мозку та збагаченої тромбоцитами плазми в ортопедії та травматології»

4. Термін впровадження:

5. Загальна кількість спостережень: 48

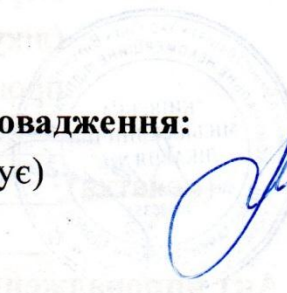
6. Ефективність впровадження: Відповідно до міжнародних суб'єктивних шкал оцінки функції та болю суглобу 86.8% пацієнтів після лікування з використанням ін'єкційних регенеративних засобів відмічали покращення в терміні спостереження до 12 місяців. Об'єктивні методи оцінки лікувального ефекту продемонстрували позитивний вплив регенеративних технологій на стан суглобового хряща. Таким чином, комплексне лікування остеоартриту різного ступеня з допомогою збагаченої тромбоцитами плазми, концентрату червоного кісткового мозку та препаратів гіалуронової кислоти є ефективним та безпечним.

Зауваження, пропозиції: Рекомендується до впровадження в клінічну практику.

**Відповідальний за впровадження:**  
(установа, що впроваджує)



Handwritten signature in blue ink, likely belonging to the responsible person for implementation.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Керівник установи

(лікувального закладу, де впроваджена  
пропозиція)

(печатка)

« \_\_\_\_\_ »

2021 р.

### Акт впровадження

1. Назва пропозиції для впровадження: Спосіб центрифугування крові для отримання різних видів збагаченої тромбоцитами плазми.
2. Ким запропонована, адреса, виконавець: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика, кафедра ортопедії і травматології №1. м. Київ – 04112, вул. Кондратюка 8. МКЛ №8. Мовчан О.С., Оліфіренко О.І.

3. Джерело інформації:

Оліфіренко О.І., Герцен Г.І., Мовчан О.С., Процик А.І. Матеріали « Четверта всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання лікування патології суглобів та ендопротезування», м.Приморськ, 12-14 вересня 2019 року, «Наш досвід використання регенеративних технологій при пошкодженнях хряща великих суглобів»

Оліфіренко О.І., Мовчан О.С. Збірник наукових праць «18 з'їзд ортопедів-травматологів України» м.Івано-Франківськ 9-11 жовтня 2019 «Використання концентрату червоного кісткового мозку та збагаченої тромбоцитами плазми в ортопедії та травматології»

4. Термін впровадження:

5. Загальна кількість спостережень: 24

Ефективність впровадження: Впроваджені методи центрифугування дають можливість отримати принципово різні три види збагаченої тромбоцитами плазми по РАW класифікації:

- P2-x-B $\beta$  – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і до 750 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів нижче базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.

- P2-x-Aβ – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і до 750 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів вище базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.

- P4-x-Bβ – кількість тромбоцитів більше базового рівня цільної крові і більше 1250 тис/мкл, без використання активатора, кількість лейкоцитів нижче базового рівня, кількість нейтрофілів нижче базового рівня.

Що дозволяє в залежності від клінічної картини і патології на практиці диференційно підбирати вид збагаченої тромбоцитами плазми.

6. Зауваження, пропозиції: Рекомендується до впровадження в клінічну практику.

**Відповідальний за впровадження:**

(установа, що впроваджує)

