

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА**

На правах рукопису

РАДЬОГА ЯРОСЛАВ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК : 616.33-002.2-089.819

**ПОЄДНАННЯ КЛІТИННИХ ТЕХНОЛОГІЙ ТА МІНІІНВАЗИВНОЇ
ХІРУРГІЇ В ЛІКУВАННІ ХРОНІЧНОЇ ВИРАЗКИ ШЛУНКА
(експериментально-клінічне дослідження)**

14.01.03 – хірургія

**Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

**Науковий керівник:
доктор медичних наук, професор
Усенко Олександр Юрійович**

Вінниця, 2015 рік

ЗМІСТ

ЗМІСТ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕТІОПАТОГЕНЕЗ, РЕПАРАТИВНІ ПРОЦЕСИ ТА ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНИХ ВИРАЗОК ШЛУНКУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	12
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	41
РОЗДІЛ 3. ХРОНІЧНІ ВИРАЗКИ ШЛУНКУ: ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ТА РЕГЕНЕРАЦІЯ В УМОВАХ СТИМУЛЯЦІЇ РЕПАРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)	65
3.1. Дослідження ефективності запропонованої експериментальної моделі симетричних виразкових уражень шлунку	65
3.2. Перебіг процесу загоєння виразкових дефектів шлунку у щурів в умовах стимуляції репаративних процесів	72
3.3. Морфогенез експериментальних ацетатних виразок в умовах стимуляції репаративних процесів	78
РОЗДІЛ 4. ХРОНІЧНІ ВИРАЗКИ ШЛУНКУ, ЩО ПОГАНО РЕГЕНЕРУЮТЬ: ДИНАМІКА РЕГЕНЕРАЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКУ ТА ЯКІСТЬ ЖИТТЯ ПАЦІЄНТІВ В УМОВАХ СТИМУЛЯЦІЇ РЕПАРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ (КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)	108
4.1. Особливості регенерації хронічних виразкових дефектів шлунку в умовах локального застосування плазми збагаченої тромбоцитами	108
4.2. Морфогенез хронічних виразок шлунку в умовах стимуляції	

репаративних процесів плазмою збагаченою тромбоцитами	122
4.3. Аналіз інтенсивності абдомінального больового синдрому та якості життя пацієнтів із хронічними виразками шлунку	132
РОЗДІЛ 5. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	140
ВИСНОВКИ	167
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	169
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	170
ДОДАТОК А. КАРТА РЕЄСТРАЦІЇ КЛІНІЧНИХ ДАНИХ ПАЦІЄНТА (ЗРАЗОК)	192
ДОДАТОК В. Шкала оцінки шлунково-кишкових симптомів (ЗРАЗОК)	193

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

AB	–	Ацетатна виразка
BX	–	Виразкова хвороба
ДПК	–	Дванадцятипала кишка
ЕГДС	–	Езофагогастродуоденоскопія
ІПП	–	Інгібітори протонної помпи
Л/а	–	Ліпоаспірат
ЛЦ	–	Лімфоцити
МФ	–	Макрофаги
НПЗЗ	–	Нестероїдні протизапальні засоби
ПЦ	–	Плазмоцити
ПЯЛ	–	Поліморфноядерні лейкоцити
СО	–	Слизова оболонка
ТБ	–	Тканинні базофіли
ФБ	–	Фібробласти
ШКТ	–	Шлунково-кишковий тракт
bFGF	–	Основний фактор росту фібробластів
COX	–	Циклооксигеназа
EGF	–	Епідермальний фактор росту
EGF-R	–	Рецептори епідермального фактору росту
NO	–	Монооксид азоту
PDGF	–	Тромбоцитарний фактор росту
PDEGF	–	Тромбоцитарний фактор росту ендотелію
PGE ₂	–	Простагландин E ₂
PG-I ₂	–	Простациклін I ₂
PRP	–	Плазма збагачена тромбоцитами (Platelet-rich plasma)
VEGF	–	Фактор росту ендотелію судин

ВСТУП

Актуальність теми. Хронічна виразка шлунка залишається актуальною проблемою сучасної хірургії, незважаючи на перегляд в останні десятиріччя патогенетичних механізмів її виникнення, оптимізацію підходів до консервативного лікування, розвиток фармакологічної індустрії. Частота її виявлення кожного року збільшується (О.Н. Минушкин, 2007; Л.Б. Лазебник та співавт., 2007; В.Т. Ивашкин та співавт., 2008; В.А. Васильев, 2009; Я.М. Вахрушев та співавт., 2010; Д.Б. Колесников та співавт., 2010). У структурі хвороб органів травлення хронічна виразка становить 12,83%, а хронічна виразка, що погано регенерує складає 5,7%. За даними МОЗ України, захворюваність є значною і практично не змінюється протягом останніх років. У різних верствах населення поширення хронічної виразки шлунка становить від 10 до 25% (В.Г. Передерий та співавт., 2009).

Щодо ускладнених форм виразки шлунку, то їх частота та спричинена ними летальність незначно збільшилися (Я.М. Вахрушев та співавт., 2008). До ускладнень належать кровотеча, перфорація, пенетрація, стеноз виходу з шлунка, малігнізація. Найбільш загрозливими для життя є кровотеча й перфорація, що виникають спонтанно, потребують невідкладної госпіталізації хворого та є причиною високої летальності. Так, в усіх країнах світу спостерігаються збільшення частоти виникнення виразкової кровотечі, а також пов'язаної з цим летальності (L. Laine, 2012).

В Україні у структурі кровотечі з верхніх відділів травного каналу кровотеча виразкового генезу становить 46–61% (П.Д. Фомін та співавт., 2007). Крім того, виразкова кровотеча становить 18–23% в структурі усіх ургентних захворювань органів черевної порожнини (С.Ф. Багненко та співавт., 2006). Частота перфорації виразки у пацієнтів при виразковій хворобі становить від 4 до 15%, посідаючи третє місце в структурі гострих хірургічних захворювань органів черевної порожнини (С.М. Чуклін та співавт., 2009).

Смертність при виразці шлунка в різних країнах становить 6,0 – 7,1 на 100 000 населення. Незважаючи на застосування сучасних методів терапії, у 2–20% хворих досягти клініко–ендоскопічної ремісії не вдається (Я.М. Вахрушев та співавт., 2008). Як причина інвалідизації, хронічна виразка шлунка посідає друге місце після серцево–судинних захворювань.

Частота виявлення виразки шлунка у пацієнтів віком старше 60 років становить майже 10% (Р. Tolcea, 2011). Виразкову хворобу шлунка вперше виявляють не менше ніж у 3% пацієнтів похилого та старечого віку. Виразка шлунка у таких хворих виникає в 1,7 разу частіше, ніж у пацієнтів молодого віку. Частота малігнізації виразки шлунка у літніх пацієнтів становить 14,2%, інші ускладнення, зокрема кровотечу, перфорацію та пілоростеноз виявляють відповідно у 16,8, 7,8 та 5,0%. У пацієнтів похилого та старечого віку частіше виявляють великі та гігантські виразки, ускладнення виразкової хвороби виникають значно частіше, ніж у пацієнтів молодого та середнього віку, рубцювання виразки відбувається повільно, захворювання має тенденцію до частих рецидивів з тривалими загостреннями (С.И. Буторов та співавт., 2007; Е.А. Исламова, 2008). Понад 66% смертельних наслідків, пов'язаних з ускладненнями виразкової хвороби, реєструють саме у літніх пацієнтів. Якщо у пацієнтів віком 60–65 років ускладнені форми виразкової хвороби виявляють з частотою майже 30%, то у віці 80–85 років – 75–80% (Л.П. Воронина, 2008).

На даний час планові оперативні втручання при відсутності ускладнень направлені на ліквідацію виразкового дефекту при тривалому перебігу його загоєння. До планових оперативних втручань вдаються у випадках, коли відсутня позитивна динаміка при застосуванні консервативної терапії протягом більше 12 тижнів (L. Napolitano, 2009).

Малоінвазивні технології в хірургії шлунково-кишкового тракту, що стрімко розвиваються, стають більш високотехнологічними та безпечними, є перспективним напрямком в хірургії шлунку (P.W. Chiu et al., 2015; S.H. Kim et al., 2015).

В сучасній медицині широкого розповсюдження набуває модуляція репаративних процесів із використанням клітинних технологій, зокрема, аутологічних стовбурових клітин та плазми збагаченої тромбоцитами (H. Gremmels et al., 2013; J.M. Kane et al., 2015). Проте в літературі немає жодних даних про використання даних технологій для прискорення репаративних процесів у виразкових дефектах шлунково-кишкового тракту.

Мета дослідження: покращення безпосередніх результатів лікування хворих з приводу хронічної виразки шлунка, що погано регенерує, шляхом розробки та впровадження в лікувальний процес клітинних технологій у поєднанні з мініінвазивною хірургією.

Завдання дослідження:

1. Розробити експериментальну модель хронічного симетричного виразкового ураження шлунка у щурів.
2. Вивчити можливості та ефективність застосування клітинних технологій для прискорення репаративних процесів у хронічній виразці шлунка, що погано регенерує, в експерименті.
3. Вивчити морфологічні зміни слизової оболонки шлунка в умовах біологічної стимуляції.
4. Оцінити результати лікування пацієнтів з приводу хронічної виразки шлунка, що погано регенерує.
5. Оцінити ефективність поєданого застосування клітинних технологій та мініінвазивної хірургії в лікуванні пацієнтів з приводу хронічної виразки шлунка, що погано регенерує.

Об'єкт дослідження – хронічна виразка шлунка.

Предмет дослідження – консервативні, біотехнологічні, ендоскопічні методи лікування хронічної виразки шлунка.

Методи дослідження. Аналіз даних клініко-інструментальних досліджень згідно розробленої карти реєстрації клінічних даних пацієнта. Для визначення особливостей клінічного перебігу захворювання в умовах прискорення репаративних процесів та оцінки ефективності запропонованих

методик використовували загальноклінічні, лабораторні та інструментальні методи дослідження (езофагогастродуоденоскопія, гістологічне дослідження). В експериментальній частині роботи були застосовані власні методики моделювання хронічних симетричних виразкових уражень шлунку та прискорення репаративних процесів у виразкових дефектах. Одержані дані піддавалися обробці за допомогою пакету статистичних програм SPSS 20.0 for Windows.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планового наукового дослідження Вінницького національного університету ім. М.І. Пирогова “Розробка і удосконалення новітніх технологій в хірургічному лікуванні та профілактиці післяопераційних ускладнень у хворих з захворюваннями органів черевної та грудної порожнини” (Номер державної реєстрації: 0113U007692) і виконана на кафедрі хірургії №1 з курсом “Основи ендоскопічної та лазерної хірургії” Вінницького національного університету ім. М.І. Пирогова.

Наукова новизна.

Розроблено пристрій для моделювання хронічних симетричних виразкових уражень шлунку (Позитивне рішення по заявці № у 2015 07161 на Патент України на корисну модель).

Розроблено 4 методики прискорення репаративних процесів у виразкових дефектах шлунково-кишкового тракту та оцінено їх ефективність в експерименті (Позитивні рішення по заявкам № у 2015 01160, № у 2015 07162, № у 2015 07163, № у 2015 07164 на Патенти України на корисну модель).

Досліджено ефективність ендоскопічного ін'єкційного введення плазми збагаченої тромбоцитами в лікуванні хронічних виразок шлунку в клініці.

Розроблено пристрій для керування шприцом (Патент України на корисну модель № 97617).

Запропоновано спосіб інтраопераційного вимірювання площі виразкового дефекту стінки шлунку (Подано заявку на Патент України на корисну модель).

Практична цінність отриманих результатів.

Значення роботи в практичному аспекті визначається комплексним підходом до вирішення питань, направлених на покращення результатів лікування пацієнтів хронічними виразками шлунку з використанням клітинних технологій та мініінвазивних хірургічних втручань. У роботі вдосконалено спосіб моделювання хронічних симетричних виразкових уражень шлунку; розроблено чотири нових способи прискорення репарації у виразкових дефектах шлунку та оцінено їх ефективність; впроваджено в медичну практику спосіб ендоскопічної ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами для стимуляції загоєння виразок шлунку. Проведено ретельний аналіз традиційного консервативного лікування та його комбінації з ін'єкцією плазми збагаченої тромбоцитами. Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчально-методичний процес кафедри хірургії №1 з курсом "Основи ендоскопічної та лазерної хірургії" Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, роботу відділень ендоскопії, абдомінальної хірургії, гастроентерології Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М.І. Пирогова, хірургічного відділення Київської міської клінічної лікарні №15, хірургічного відділення Київської міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги.

Особистий внесок дисертанта. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Напрямок дослідження автором обрано самостійно. Дисертантом проведено розробку основних теоретичних та практичних положень роботи, аналіз літературних джерел і патентно-інформаційний пошук, визначення мети та завдань дослідження. Дисертант самостійно виконав експериментальне дослідження по дослідженню 4 нових методик прискорення репаративних процесів у виразкових дефектах шлунково-кишкового тракту та оцінив його результати. Автором було

оцінено 50 клінічних випадків хронічної виразки шлунку. Дисертант самостійно виконував всім пацієнтам із обстежуваного контингенту ендоскопічні дослідження, а пацієнтам дослідної групи – ендоскопічні ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами. Дисертантом самостійно виконано статистичну обробку зібраного матеріалу, проведено аналіз та інтерпретацію результатів дослідження та оформлено розділи дисертації, сформульовано висновки та практичні рекомендації, підготовано матеріали до друку. Дисертант разом із науковим керівником запропонували: чотири “Способи прискорення репаративних процесів у виразкових дефектах шлунково-кишкового тракту” (Позитивні рішення по заявкам № у 2015 07160, № у 2015 07162, № у 2015 07163, № у 2015 07164 на Патенти України на корисну модель), “Пристрій для моделювання симетричних виразкових уражень шлунку” (Позитивне рішення по заявці № у 2015 07161 на Патент України на корисну модель), “Пристрій для керування шприцом” (Патент України на корисну модель № 97617), “Спосіб інтраопераційного вимірювання площі виразкового дефекту стінки шлунку” (Подано заявку на Патент України на корисну модель).

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: VII науково–практичній конференції “Актуальні проблеми гастроентерології та абдомінальної хірургії” (Хмельницький, 2014); науково–практичній і навчально–методичній конференції “Актуальні питання хірургії” (Вінниця, 2014); VI міжнародній науково–практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2015), науково–практичній конференції з міжнародною участю “Актуальні питання торакоабдомінальної хірургії” (Харків, 2015); XXIII з’їзді хірургів України (Київ, 2015); науково–практичній конференції з міжнародною участю “Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини” (Вінниця, 2015); IV науково–практичній конференції “Запалення: морфологічні, патофізіологічні, терапевтичні та хірургічні аспекти” (Вінниця, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковані 7 наукових праць, з них 5 статей – у фахових наукових виданнях, що входять до переліку ДАК МОН України, 2 – у матеріалах конференцій та з’їздів, 1 патент України на корисну модель, позивні рішення на 5 та подано заявку на 1 патент України на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 196 сторінках. Робота складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, двох розділів власних досліджень – експериментального та клінічного, аналізу та узагальнення результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, що включає 190 джерел, із яких 159 викладені латиницею та 31 – кирилицею. Робота ілюстрована 22 таблицями, 57 рисунками.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕТІОПАТОГЕНЕЗ, РЕПАРАТИВНІ ПРОЦЕСИ ТА ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНИХ ВИРАЗОК ШЛУНКУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Епідеміологія хронічних виразок шлунку

Не зважаючи на перегляд в останні десятиріччя патогенетичних механізмів виникнення гастродуоденальних виразок, оптимізацію підходів щодо їх консервативного лікування, розвиток фармакології, хронічні виразки шлунку та дванадцятипалої кишки (ДПК) продовжують залишатися актуальною проблемою сучасної гастроентерології та хірургії, а поширеність даної патології з кожним роком збільшується [5, 6, 13, 16, 17, 18]. У структурі поширеності хвороб органів травлення виразка шлунку та дванадцятипалої кишки становить 12,83%. За даними МОЗ України, захворюваність на виразку шлунку і дванадцятипалої кишки в Україні у 2010 році становила 127,3 осіб на 100 тис. населення (абсолютні значення – 58293,0), поширеність – 2299,4 на 100 тис. населення (абсолютне значення – 1052741,0). Порівняно з 2009 році захворюваність і поширеність виразки дещо знизилася, хоча й залишаються далекими від бажаних. Серед різних категорій населення поширеність виразкової хвороби (ВХ) варіює в межах від 10% до 25%, дуоденальна локалізація виразки спостерігається в 3–4 рази частіше, ніж шлункова [29, 61].

У 80-і роки ХХ століття в світі, а особливо у країнах Заходу, поширеність ВХ помітно знизилася. Дана обставина пояснювалася впровадженням методів ендоскопічної діагностики, відкриттям ролі *Helicobacter pylori* у патогенезі ВХ та її рецидивів, новими підходами до лікування та профілактики загострень даної патології. Так, якщо в 70–80-ті роки минулого століття вважалося, що кожна десята людина у своєму житті може захворіти ВХ, то за даними ряду дослідників, поширеність ВХ, в останні роки, знизилася в кілька разів [12, 17].

Однак, незважаючи на зниження показників поширеності ВХ, число ускладнених форм та пов'язана з ними летальність залишаються на колишньому рівні або навіть зростають [7]. До ускладнень виразки відносять кровотечу, перфорацію, пенетрацію, стеноз виходу зі шлунка, малігнізацію. Найбільш загрозливими для життя є кровотеча та перфорація, які виникаючи спонтанно, потребують невідкладної госпіталізації та є причиною великої кількості летальних випадків. Так, у всіх країнах світу спостерігається збільшення частоти розвитку виразкових кровотеч, а також пов'язаної із ними летальності.

В Україні, у структурі кровотеч із верхніх відділів шлунково-кишкового тракту, кровотечі виразкового генезу складають 46–61% [29]. Крім того, виразкові кровотечі складають 18–23% серед усієї ургентної патології органів черевної порожнини [4]. Частота перфорації у пацієнтів з виразковою хворобою складає від 4 до 15%, посідаючи третє місце серед гострої абдомінальної хірургічної патології [25].

Виразкова хвороба носить хронічний рецидивуючий характер, вражає молодий працездатний вік і нерідко є основною причиною тимчасової та стійкої втрати працездатності. Смертність від ВХ коливається в різних країнах від 6,0 до 7,1 на 100000 населення при виразці шлунка та від 0,2 до 9,7 на 100000 при виразці дванадцятипалої кишки. Незважаючи на застосування сучасних методів терапії, у 2–20% хворих клінікоендоскопічної ремісії досягти не вдається [7]. Як причина інвалідизації, виразкова хвороба займає друге місце після серцево-судинних захворювань. Втрата працездатності в зв'язку з частими загостреннями захворювання, інвалідизація людей найбільш працездатного віку, смертність від важких ускладнень роблять проблему лікування виразкової хвороби соціальним завданням.

З економічної точки зору проблема ВХ також стоїть дуже гостро. Так, наприклад, річна вартість підтримуючої терапії H_2 -гістаміноблокаторами у Франції становить 700 млн. доларів США. Витрати, пов'язані з лікуванням

хворих на дану патологію в США досягають 3,1 млрд. доларів, займаючи при цьому 4-е місце після витрат, пов'язаних з лікуванням гастроєзофагальної рефлексної хвороби, жовчокам'яної хвороби та колоректального раку.

Найбільш важкий перебіг ВХ у літніх пацієнтів [8, 9, 11]. Частка пацієнтів у віці старше 60 років серед хворих на виразку становить близько 10%. Виразкова хвороба шлунка вперше виявляється у пацієнтів похилого та старечого віку не менше ніж у 3% випадків. Виразки шлунка у даного контингенту хворих виникають в 1,7, а виразки ДПК – в 3 рази частіше в порівнянні з особами молодого віку. Частота малігнізації виразок шлунка та ДПК у літніх пацієнтів становить 14,2%, інші ускладнення: кровотеча, перфорація та пілоростеноз виникають у 16,8%, 7,8% та 5,0% випадків, відповідно. У осіб похилого та старечого віку частіше зустрічаються виразки великих і гігантських розмірів, ускладнення ВХ виникають набагато частіше, ніж у пацієнтів молодого та середнього віку, рубцювання виразок відбувається повільно, а захворювання має тенденцію до частих рецидивів із тривалими загостреннями [14, 15]. Більше 2/3 смертельних випадків, пов'язаних з ускладненнями ВХ, реєструються саме у літніх пацієнтів. Якщо у віці 60–65 років ускладнені форми ВХ становлять близько 30%, то у віці 80–85 років частка таких форм захворювання досягає 75–80% [9].

1.2. Етіопатогенетичні передумови розвитку виразки шлунку

Хронічна виразка шлунку являє собою порушення цілісності стінки шлунка із ураженням слизової оболонки, підслизової основи та м'язової оболонки. Захворюваність залежить від віку, статі, географічного розташування та пов'язане з важкими ускладненнями, включаючи крововиливи, перфорації, шлунково-кишкові обструкції, і злоякісних новоутворень [67].

При вивченні етіопатогенезу хронічної виразки загальноприйнятим є виділення факторів захисту та факторів агресії. До основних факторів агресії відносять агресивну дію шлункового соку, порушення моторики, пепсин,

солі жовчних кислот, вживання алкоголю та нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), а також інфікування *Helicobacter Pylori* (та інші). З іншого боку, продукція слизу та бікарбонатів, гастропротективна дія простагландинів та нормальна мікроциркуляція у стінці шлунку створюють надійний захист від утворення виразкових дефектів. В нормі слизова оболонка шлунку підтримує баланс між факторами захисту та агресії. Хоча в більшості випадків етіологія виразки невідома, як правило, прийнято вважати, що виразка шлунку є поліетіологічним та мультифакторним захворюванням і розвивається, коли вплив факторів агресії (ендогенні, екзогенні та/або інфекційні агенти) переважає над захисними механізмами слизової оболонки шлунку [186].

1.2.1. Фактори захисту слизової оболонки шлунку

Загалом, усі механізми захисту слизової оболонки шлунку являють собою так званий “бар’єр”. “Бар’єр” є багатокомпонентною системою, яка включає в себе преепітеліальний слизово-бікарбонатний “бар’єр”, епітеліальний “бар’єр” (поверхня епітеліальних клітин, з’єднаних щільними контактами) та субепітеліальні компоненти, такі як, мікроциркуляторне русло та нерви [67, 102, 136].

Преепітеліальний слизово-бікарбонатний “бар’єр”

Для надійного захисту слизової оболонки шлунку від руйнівного впливу кислот та ферментів першочергове значення має слизово-бікарбонатний “бар’єр”. З моменту першого експериментального обґрунтування важливості слизово-бікарбонатного “бар’єру”, він міцно утвердився в якості ключового захисного компонента слизової оболонки проти шкідливих агентів. Цей бар’єр являє собою першу лінію захисту слизової оболонки і складається із слизового гелю, бікарбонатів (HCO_3^-) та сурфактантних фосфоліпідів, що покривають поверхню слизової оболонки [40].

Слиз являє собою в’язкий пружний адгезивний прозорий гель, що виділяється з апікальної поверхні епітеліальних клітин і складається на 95%

із води і на 5% із глікопротеїнів муцину. Фосфоліпіди, що покривають слизову оболонку володіють сильними гідрофобними властивостями. Бікарбонати секретуються поверхнею епітеліальних клітин в кількості, достатній для підтримання нейтрального рівня рН в товщі слизу, їх роль полягає у нейтралізації соляної кислоти, що дифундує в слиз [186].

Також слиз створює фізичний бар'єр від пепсину, дія якого характеризується фокальними порушеннями адгезії слизу до епітелію, арозією судин слизової оболонки із кровотечами в просвіт шлунково-кишкового тракту (ШКТ), а також запобіганні реепітелізації виразкового дефекту [40, 186].

Крім того, у випадку, коли деякі радикали кисню утворюються в поверхневому епітелії, що містить внутрішньоклітинний слиз, цей слиз може поглинати їх, діючи як антиоксидант, і, таким чином, зменшуючи пошкодження слизової оболонки атомарним киснем.

Ефективність захисних властивостей слизової бар'єру залежить не тільки від структури гелю, але і від його кількості або товщини шару, що покриває поверхню слизової оболонки. Товщина цього шару є результатом динамічної рівноваги між секреції слизу та його протеолітичної деградацією під дією пепсину в шлунку.

Слизово-бікарбонатний “бар'єр” є межею між епітелієм та просвітом ШКТ. Його порушення при різних патологічних процесах запускає інші захисні механізми, в тому числі реепітелізацію та перерозподіл мікроциркуляції у слизовій оболонці [186].

Епітеліальний “бар'єр”

Даний бар'єр утворений суцільним шаром поверхні епітеліальних клітин, які секретують слиз та бікарбонати, продукують простагландини, білки теплового шоку, пептиди родини фактору “трилісника” (шлункові пептиди TFF-1, спазмолітині пептиди TFF-2, інтестинальні протеїни TFF-3) та кателіцидини (ендогенні протимікробні пептиди). Епітеліальний бар'єр відділяє травний канал від внутрішнього середовища організму. Його

основна роль полягає у підтримці селективного обміну різних речовин (виділень, поживних речовин і т.д.) між травним каналом та кров'ю, а також у забезпеченні захисту організму від мікробної інвазії та проникнення екзогенних антигенів, що містяться в їжі. У цьому контексті, двома найважливішими елементами епітеліального “бар'єру” являються епітеліальні клітини та міжклітинні щільні з'єднання, що забезпечують трансцелюлярний та парацелюлярний транспорт, відповідно [115, 186]. Наявність на поверхні епітеліальних клітин фосфоліпідів обумовлює їх гідрофобність, а, отже, здатність відштовхувати кислоти та водорозчинні пошкоджуючі агенти.

Білки теплового шоку, що продукуються епітеліальними клітинами шлунку, мають важливе значення для підтримки клітинного гомеостазу під час нормального росту клітин та різних клітинних стресів (підвищення температури, окислювальний стрес, вплив цитотоксичних агентів), запобігаючи денатурації білка та захисту клітин від пошкодження. Крім того, кателіцидин і β -дефенсин є катіонними пептидами вродженої захисної системи організму, що перешкоджають бактеріальній колонізації. Також було доведено їх роль у прискоренні загоєння виразок [90, 141, 186].

Пептиди родини фактору “трилисника” включають в себе групу невеликих пептидів із молярною масою 6,5–12 кДа, що секретуються в достатній кількості епітелієм шлунку. Вони регулюють реепітелізацію шляхом стимуляції міграції клітин, створюють захисну дію слизової оболонки від широкого спектру токсичних хімічних речовин та препаратів, а також інгібують апоптоз і запалення, та посилюють бар'єрну функцію слизу [50, 115, 186].

Підтримка цілісності епітелію вимагає точного балансу між клітинною проліферацією та загибеллю клітин. Клітинна проліферація клітин-попередників контролюється двома пептидів – епідермальним фактором росту (EGF) та трансформуючим фактором росту альфа (TGF- α). Обидва пептиду здатні стимулювати проліферацію епітеліальних клітин у

разі травми, а також підвищувати секрецію слизу та пригнічуювати секрецію соляної кислоти в шлунку [115].

Простагландини також синтезуються епітеліальними клітинами слизової оболонки шлунку. Вони приймають участь у метаболізмі арахідонової кислоти за участю циклооксигенази (COX) та здатні послабити або навіть повністю запобігти пошкодженню слизової оболонки шляхом посилення кровотоку в слизовій оболонці шлунку та обмеження зворотної дифузії соляної кислоти в клітини епітелію [70].

Крім того, було доведено захисний вплив інших медіаторів, таких як монооксид азоту (NO), а також деяких гормонів (гастрит, холецистокінін, грелін, лептин, гастрин-релізінг пептид) на слизову оболонку шлунку при дії різних пошкоджуючих факторів. Такий ефект також пов'язують із продукцією простагландинів.

Субепітеліальні компоненти захисту слизової оболонки

Модуляція мікроциркуляції слизової оболонки шлунку відіграє важливу роль у підтримці цілісності шлунка, особливо для доставки кисню і поживних речовин і видалення токсинів. На рівні м'язової оболонки шлунку, капіляри проходять через власну пластинку та прямують до поверхні слизової оболонки в безпосередній близькості від шлункових залоз епітеліальних клітин. На рівні поверхневих епітеліальних клітин капіляри зливаються в сплетення і переходять у венули [115, 186]. Таким чином, широко розгалужена судинна сітка створює істотний вплив на захисні механізми. Так, наприклад, реепітелізація, як процес, при якому оголені ділянки слизової оболонки, покриваються швидко мігруючими клітинами з прилеглої слизової, залежить значною мірою від адекватного кровотоку. Крім того, подразнюючий вплив соляної кислоти при безпосередньому контакті із слизовою оболонкою, або у разі зворотної її дифузії у клітини епітелію, призводить до помітного посилення кровотоку у слизовій оболонці. Це дозволяє видаляти та/або розбавляти концентровану соляну кислоту та/або інші шкідливі агенти [97, 115].

Ендотеліальні клітини судинної стінки також здатні продукувати потужні вазодилататори, такі як монооксид азоту та простагліцилін ($PG-I_2$). NO є важливою біологічною сигнальною молекулою, що впливає на циркуляцію, регулюючи судинний тонус гладких м'язів та модуляцію системного артеріального тиску, таким чином, позитивно впливаючи на захисні механізми слизової оболонки ШКТ. Як NO, так і PGI_2 протистояти негативному впливу потужних ендогенних вазоконстрикторів, таких як тромбоксан A_2 , лейкотрієн C_4 та ендотелін [115]. На додаток, NO захищає шлунково-кишковий тракт шляхом інгібування секреції соляної кислоти парієтальними клітинами, а також завдяки стимуляції продукції слизу та бікарбонатів. Такий вплив моно оксиду азоту забезпечує адекватний неангіогенез, що було доведено рядом досліджень, проведених як *in vivo*, так і *in vitro*.

На додаток до місцевих факторів, захист слизової оболонки також, принаймні, частково, регулюється, центральною нервовою та ендокринною системами. Слизова оболонка шлунку та судини підслизового шару іннервуються первинними аферентними сенсорними нейронами та нервами, що утворюють потужні сплетення біля основи слизової оболонки. Активація цих нервів проявляється в присутності соляної кислоти шлункового соку та сприяє вивільненню медіаторів (речовина P, CGRP – пептид пов'язаний із геном кальцитоніну), які розслаблюють гладкі м'язи, що оточують артеріоли. Така реакція проходить при посередництві моно оксиду азоту та призводить до посилення кровонаповнення слизової оболонки та підвищення продукції слизу клітинами епітелію [97, 115, 186].

1.2.2. Фактори агресії відносно слизової оболонки шлунку

Незважаючи на надійний та багатоступінчастий захисний бар'єр стінки шлунку, існує ряд факторів, що за певних умов здатні порушувати його цілісність та призводити до травмування не лише слизової оболонки, але й більш глибоких шарів. До таких факторів агресії відносять: *Helicobacter pylori* та продукти його життєдіяльності, нестероїдні протизапальні засоби,

соляна кислота шлункового соку, алкоголь, оксидативний стрес, а також різні хімічні сполуки [186].

Helicobacter pylori

Helicobacter pylori є другим за поширеністю патогенним мікроорганізмом людини та уражує близько 90% населення. *Helicobacter pylori* спричиняє хронічні гастрити різного ступеня важкості, які приблизно в 10–15% переходить у виразкову хворобу, а в 1–2% випадків в кінцевому підсумку призводить до розвитку MALT-лімфоми або аденокарциноми шлунку [50, 62].

Характерною особливістю даного патогена є синтез уреаз, чим пояснюється надзвичайну здатність бактерій до колонізації слизової оболонки шлунку та виживання в кислому середовищі. Оскільки екологічна ніша даного мікроорганізму збагачена сечовиною, він каталізує її гідроліз з утворенням аміаку (NH_3), діоксиду вуглецю (CO_2) та гідроксильних іонів, завдяки чому нейтралізує кисле середовище шлунку. Аміак, в свою чергу, реагує з OCl^- , що продукується нейтрофілами, з утворенням високотоксичного монохлораміну (NH_2Cl). Рядом досліджень було продемонстровано, що інгібування уреаз *Helicobacter pylori* дозволяє значно знизити токсичний вплив на епітеліальні клітини стінки шлунку. Крім того, гідроксид-іони (OH^-) також спричиняють токсичний вплив на епітелій шлунку [94].

Крім того, специфічні білки адгезії, спіральна форма мікроорганізма та його рухливість, обумовлена наявністю джгутиків, роблять його стійким до перистальтичного руху вмісту шлунку та дозволити залишатися в слизовій оболонці.

Важливим моментом також є вірулентність штаму *Helicobacter pylori*. Вірулентні штами, проникаючи в епітелій шлунку, порушують цілісність мембран та стимулюють виділення клітинами епітелію токсичних білків, цитотоксинів, фактора активації тромбоцитів та ліпополісахаридів, що ще в більшій мірі пошкоджує слизову оболонку шлунку. Ці процеси прискорюють

апоптоз та проліферацію в слизовій оболонці [62, 123, 126]. Також, було продемонстровано, що запальна реакція проходить після ліквідації інфекційного процесу. Крім того, також знижувалися концентрації прозапальних та антисекреторних цитокінів [75].

Нестероїдні протизапальні засоби

Іншим важливим фактором, що безпосередньо пов'язаний із пошкодженням слизової оболонки шлунка є використання нестероїдних протизапальних засобів, причому значення їх в генезі виразкової хвороби постійно зростає. Пошкодження цілісності слизової оболонки є причиною пов'язаних із цим ускладнень, таких, як гастродуоденальні кровотечі та перфорації [115]. Різні дослідження демонструють, що НПЗЗ є одними з найбільш часто використовуваних препаратів у світі. Так, у Сполучених Штатах Америки кожен рік лікарі виписують близько 70 мільйонів рецептів на НПЗЗ, а у Європі ці препарати складають більш ніж 7,7% від усіх призначень. При цьому близько 90% рецептів виписуються пацієнтам віком старше 65 років.

Основним механізмом, за допомогою якого НПЗЗ викликають пошкодження слизової оболонки є інгібування циклооксигенази, ключового ферменту в біосинтезі простагландинів. Є дві ізоформи COX: COX-1 та COX-2 [115]. COX-1 стимулює вироблення простагландинів, які відіграють істотну роль у захисті слизової оболонки шлунку. Ці ферменти стимулюють синтез і секрецію слизу та бікарбонатів, підвищують кровотік у слизовій оболонці та стимулюють проліферацію епітелію. COX-2 має погано або взагалі не виражені ефекти у більшості тканин, але швидко активується у відповідь на запалення, а отже, є основною мішенню для протизапальних препаратів.

У цьому контексті традиційні неселективні інгібітори COX-1 та COX-2, такі як індометацин або ібупрофен, є причиною пошкоджень слизової оболонки шлунку із помітним зменшенням в ній вмісту простагландину E₂ (PGE₂). Інгібування ізоформи COX-1, та ефекти, пов'язані з цим, створюють у шлунку умови, що сприяють прояву агресії інших ендогенних та

екзогенних факторів. Крім того, інгібування COX-1 блокує продукцію тромбоцитами тромбоксану A_2 , що, у випадку шлунково-кишкової кровотечі, посилює її [116].

Натомість у селективні інгібітори COX-2, поряд зі всіма основними ефектами НПЗЗ, відсутні ускладнення притаманні інгібіторам COX-1, що підтверджено рядом великих клінічних рандомізованих контрольованих досліджень та мета-аналізів [44, 45, 51, 88].

Крім того, простагландини, що продукуються за участю COX-2 відіграють важливу роль у загоєнні виразки шляхом через стимуляції проліферації клітин, неоангіогенезу та реепітелізації [113]. Результати ряду досліджень вказують на те, що НПЗЗ можуть викликати пошкодження тканин і клітин шляхом незалежного гальмування синтезу простагландину, що включає інгібування ферментів фосфорилування (кіназ), інгібування окисного фосфорилування в мітохондріях, та/або активацію апоптозу [117].

Секреція соляної кислоти

Протягом багатьох десятиліть хірурги вважали соляну кислоту основною причиною розвитку виразкової хвороби. Це підтверджувалося з одного боку позитивними результатами оперативних втручань, направлених на зменшення шлункової секреції (резекції шлунку, гастроеюностомії, ваготомії), а з іншого боку успішним застосуванням фармакотерапевтичних антисекреторних засобів [93].

Після доведення важливості ролі інших факторів агресії у патогенезі виразкової хвороби лікарі зійшлися на думці, що гіперсекреція соляної кислоти не є не головним, проте важливим чинником [155, 163].

Хоча соляна кислота і сприяє перетравленню білків, всмоктуванню кальцію, заліза та вітаміну B_{12} , а також перешкоджає колонізації слизової оболонки мікроорганізмами, проте її гіперсекреція, разом із гіперсекрецією пепсину, ведуть до хімічного опіку слизової оболонки, та перешкоджають процесам репарації у стінці шлунку. Крім того, регуляція секреції шлункового соку регулюється скоординованою взаємодією нервовим,

гуморальним (стимулюється гастрином, гістаміном, гастрин-релізінг пептидом, орексином, греліном, глюкокортикоїдами) та паракринним (інгібування за рахунок ефектів соматостатину) механізмами [163, 164].

Алкоголь

Всесвітня організація охорони здоров'я підрахувала, що із близько 2 млрд. людей по всьому світу, що вживають різні алкогольні напої, 76,3 млн. мають діагностовані розладами, спричинені саме алкоголем [92].

Внутрішньошлункове введення абсолютного етанолу вже досить давно використовується як спосіб моделювання уражень слизової оболонки шлунку у експериментальних тварин, а характер індукованих уражень в загальних рисах нагадує картину виразкової хвороби [105].

Основними механізмами впливу алкоголю на стінку шлунка є: збільшення секреції соляної кислоти, головним чином, за рахунок стимуляції секрецію гастрину, і, меншою мірою, за рахунок прямого впливу на парієтальні клітини; сторення окислювального стресу; модуляція системи монооксиду азоту; зниження кровотоку в слизовій оболонці; зниження продукції простагландинів та стимуляція вироблення лейкотрієнів [89].

Оксидативний стрес

Частково значення оксидативного стресу було описано вище.

Відомо, що активні форми кисню, такі як супероксид-аніон, пероксид водню, гідроксильні радикали, є етіологічними чинниками та патофізіологічними компонентами великої кількості захворювань людини, в тому числі й виразки шлунка.

Так, надлишок активних форм кисню є одним із основних патогенних факторів, які безпосередньо призводять до окислювального пошкодження, у тому числі перекисного окислення ліпідів, білків, окислення і пошкодження ДНК, що, в свою чергу може призвести до загибелі клітин. Крім того, ці речовини регулюють експресію ряду прозапальних генів і, тим самим,

можуть призводити до стимуляції вироблення хімічних та гуморальних медіаторів запалення та пошкодження тканин [39].

Крім того, поява вільних радикалів та малонового діальдегіду в крові та шлунковому соку може привести до радикал-ініційованих ланцюгових реакцій та пригнічення антиоксидантної системи як в крові, так і в стінці шлунка [187]. Так, численні дослідження продемонстрували зниження рівня глутатіону в запаленій слизовій оболонці шлунка та у виразкових дефектах, а також захисний ефект глутатіона на пошкодження, викликані етанолом, нестероїдними протизапальними засобами [89, 99, 136].

1.3. Особливості репаративного процесу у виразкових дефектах шлунку

Хронічна виразка є результатом некрозу слизової оболонки шлунку, в першу чергу як наслідок ішемії, з припиненням надходження поживних речовин та утворенням активних форм кисню. Некроз тканин та подальше вивільнення із пошкоджених клітин метаболітів арахідонової кислоти, в тому числі лейкотрієнів В, стимулюють локальну міграцію лейкоцитів та макрофагів, які фагоцитують некротизовані тканини та вивільняють прозапальні цитокіни. Виділення цитокінів, в свою чергу, локально активує фібробласти, ендотеліальні та епітеліальні клітини, що веде до відновлення пошкоджених тканин [170, 171].

Морфологічно виразка шлунка складається з двох компонентів: країв виразки, оточених непошкодженою слизовою оболонкою, та дна виразки, вкритого грануляційною тканиною, багатою сполучнотканинними елементами, макрофагами, фібробластами та проліферуючими капілярами.

Загоєння виразкового дефекту є складним процесом, під час якого тканини самовідновлюються після пошкодження, намагаючись досягти повної цілісності. Було запропоновано виділяти в даному процесі наступні послідовні фази, що можуть частково перекриватися: гемостаз, запалення, проліферацію та ремоделювання.

Крім того, фази репаративного процесу у виразковому дефекті, а також тривалість кожної із них, можуть бути описані наступним чином:

1. Фаза розвитку виразки – в межах перших 3 діб від моменту пошкодження.

Характеризується некрозом тканин, запальною інфільтрацією, формуванням країв виразки (де-диференціація) та початком формування грануляційної тканини.

2. Фаза загоєння виразки – 3–10 доба від моменту пошкодження.

Складається із двох періодів:

- Період раннього загоєння, що характеризується швидкою міграцією епітеліальних клітин та зменшенням дна виразки
- Період пізнього загоєння, під час якого відбуваються неоангіогенез на дні виразки, реконструкція грануляційної тканини та повна повторна епітелізація виразкового кратеру.

3. Фаза реконструкції – 20–40 доба від моменту пошкодження.

Під час цієї фази відбувається реконструкції залоз, м'язової та слизової оболонки стінки шлунка.

4. Фаза дозрівання – 40–150 доба від моменту пошкодження.

Характеризується дозріванням та диференціацією спеціалізованих клітин.

Загалом, після формування виразкового дефекту, відбувається каскад складних біохімічних реакцій, направлених на забезпечення та підтримку клітинної міграції від країв виразки до її центру з послідуною клітинною проліферацією та відновленням епітеліального шару. Загоєння виразки ініціюється формуванням “зони загоєння”, що складається з розширених залоз, клітини яких піддаються де-диференціації, експресією рецепторів епідермального фактора росту (EGF-R) та починають активно розмножуватися. На цьому етапі, відбувається запальна інфільтрація тканин біля зони некрозу та виразкового кратера. У відповідь на вплив факторів росту, формуються краї виразки, відбувається де-диференціюються клітин, що прилягає до країв виразки, а також формування та ріст грануляційної

тканини у дні виразки. Під час загоєння, грануляційна тканина піддається безперервному ремоделюванню, що полягає у кількісних та якісних змінах клітинного складу. В результаті цього клітини відповідальні за запалення, які з'явилися на початку фази загоєння, в період пізнього загоєння замінюються фібробластами та мікросудинами.

Наступна стадія – стадія проліферації ініціюється протягом 3 днів з моменту утворення виразки і має важливе значення для процесу загоєння, так як в цей період відбувається формування клітинних елементів, необхідних для реепітелізації та реконструкції виразкового дефекту. Доведено, що виразкування слизової оболонки призводить до розвитку нової лінії клітин – виразко-асоційованої клітинної лінії, яка походить із дна виживших епітеліальних крипт. Ці клітини, які експресують EGF-R та ініціюють синтез EGF, HGF, TFF-2/SP та інші фактори росту, сприяють формуванню епітеліальних трубочок, міграції та інвазії грануляційної тканини, а, в кінцевому підсумку, реконструкцію залоз у виразковому рубці [170, 171]. Послідовний часовий аналіз продемонстрував, що експресія пептидів фактору трилисника починається набагато раніше, ніж EGF. Крім того, за допомогою радіоізотопного маркування з послідуочим сканування та імуногістохімічного дослідження було продемонстровано швидке зростання експресії EGF-R та швидке зниження щільності рецепторів соматостатину на краях виразки.

Основними стимулятори міграції клітин та реепітелізації виразкового дефекту являються фактори росту, які продукуються тромбоцитами, пошкодженими тканинами та макрофагами.

Дані літератури свідчать також про те, що регенерація епітелію слизової оболонки шлунку може відбуватися за рахунок дорослих стовбурових клітин кісткового мозку. Такі висновки були зроблені на основі того, що у біоптатах слизової оболонки шлунку хворих жінок, яким було проведено трансплантації кісткового мозку від донорів-чоловіків, були виявлені клітини, що містили Y хромосому. Реепітелізація, шляхом міграції

епітеліальних клітин від країв виразкового дефекту, має важливе значення для загоєння виразки, та має тонке регулювання, так як створює бар'єр, що захищає грануляційні тканини від механічних і хімічних ушкоджень.

Слід зауважити, що міграція епітеліальних клітин вимагає комплексної перебудови цитоскелету. Зокрема, було продемонстровано, що цитоплазматичні мікрофіламенти, що складаються з G-актину, полімеризуються в F-актину, а пізніше, разом з міозином II, формують скоротливі пучки, які забезпечують рухливість клітин.

Основні механізми загоєння виразкового дефекту стінки шлунка зображені на рис. 1.1.

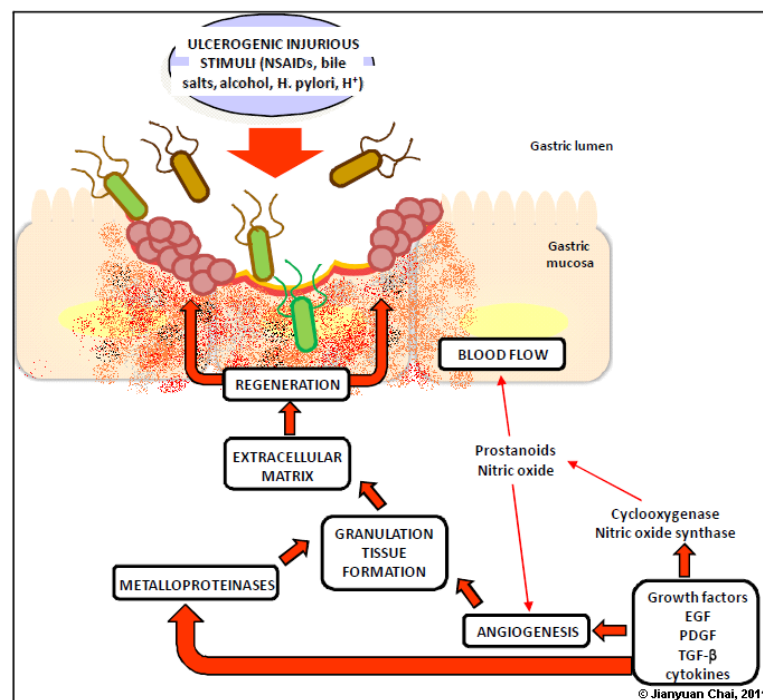


Рис. 1.1. Основні механізми загоєння виразкового дефекту стінки шлунка.

1.4. Роль тромбоцитів у репаративних процесах

Наукові дослідження останніх десятиліть вказують на те, що тромбоцити виконують величезну кількість функцій, на додаток до основної їх ролі – участі у гемостазі. Відновлення пошкоджених тканин ініціюється агрегацією тромбоцитів, утворенням фібринового згустку та вивільненням факторів росту з тромбоцитів, пошкоджених клітин та екстрацелюлярного

матриксу. Тромбоцити являють собою одне з найбільших джерел факторів росту в організмі, а, отже, принаймні частково, можуть впливати на процеси загоєння тканини.

Кілька потужних ангіогенних стимуляторів містяться в тромбоцитах, в тому числі VEGF, тромбоцитарного фактора росту ендотелію (PDEGF), EGF та PDGF [146]. Ці тромбоцитарні фактори росту стимулюють проліферацію ендотеліальних клітин та утворення капілярів. Керування механізмами, що впливають на співвідношення проангіогенних та антиангіогенних факторів в тромбоцитах, а також на їх вивільнення, дає можливість прицільно впливати на неоангіогенез та загоєння дефектів тканин. Так, наприклад, введення щурам протягом 1 тижня антиагреганта тиклопідина, як антагоніста рецепторів АДФ, призводить до помітного збільшення тромбоцитів та сироваткових рівнів ендостатина, не впливаючи на рівень VEGF у тромбоцитах. Крім того, було продемонстровано суттєву затримку загоєння виразки шлунка у піддослідних щурів. Слід зазначити, що серед великої кількості рецепторів мембрани тромбоцитів, що відіграють важливу роль у регулюванні адгезії тромбоцитів, агрегації та секреції, були знайдені, рецептори, що активуються протеїназами. Так, активація рецепторів I типу тромбіном стимулює вивільнення VEGF, в той час як інгібування їх сприяє вивільненню ендостатина. З іншого боку, активація рецепторів IV типу реалізує ефекти протилежні до вивільнення VEGF [121]. Баланс тромбоцитів та сироваткових рівнів про- та антиангіогенних факторів може впливати на процеси загоєння виразки шлунку і підвищує ймовірність того, що селективний модуляція рецепторів, що активуються протеїназами, може бути новою фармакологічною стратегією для модуляції загоєння виразкових дефектів стінки шлунка.

Поряд із розробкою нових фармакологічних стратегій для перерозподілу тромбоцитів в організмі та направленню їх до місця ушкодження з метою концентрації тут факторів росту, існує методика штучної доставки тромбоцитів до зони ураження. Методика

використовується із 1970-их років і полягає у створенні плазми збагаченої тромбоцитами (PRP, Platelet-rich plasma) та наступного введення її в пошкоджені тканини.

Плазму збагачену тромбоцитами отримують із крові пацієнта шляхом її центрифугування, в результаті якого кров розділяється на три шари: верхній – плазму бідну на тромбоцити, середній – плазму збагачену тромбоцитами, нижній – інші формені елементи крові. На даний момент існує велика кількість протоколів приготування PRP, що несуттєво відрізняються обладнанням, швидкістю центрифугування та концентрацією тромбоцитів у вихідному матеріалі [33, 54, 56, 64, 65, 87, 111, 139, 148, 152, 154, 180].

В сучасній літературі представлена величезна кількість даних, що демонструють успішне використання плазми збагаченої тромбоцитами в експериментах та у клінічній регенеративній медицині.

Так, мета-аналіз 123 експериментальних та рандомізованих плацебо-контрольованих клінічних досліджень доводить ефективність застосування PRP при патологіях опорно-рухового апарату, зокрема при артрозах II-III ст. (гонартроз, коксартроз), тендинітах, лігаментитах (запалення ахіллового сухожилка, власної зв'язки надколінника), епікондилітах (“лікоть тенісиста”, “лікоть гольфіста”), плече-лопатковому периартриті, субакроміальному синдромі, плантарному фасциїті (п'яткова шпора). Значних успіхів було досягнуто при використанні PRP у спортивній медицині, наприклад, прискорення періоду реабілітації після спортивних травм [58, 109, 110, 125, 140, 143, 149, 160, 182, 183].

Інший мета-аналіз вказує на ефективність використання тромбоцитарних концентратів (плазма збагачена тромбоцитами та фібрин збагачений тромбоцитами) у щелепно-лицьовій хірургії, зокрема для регенерації кісткових дефектів. Крім того ефективність PRP у стоматології та щелепно-лицьовій хірургії підтверджена великою кількістю досліджень не включених в даний мета-аналіз [74, 78, 124, 162, 176, 178]. Так, PRP

використовується для прискорення процесів остеоінтеграції та зниження ризику відторгнення зубних імплантатів, лікування пародонтиту, швидкого припинення кровоточивості десен, зміцнення тканин пародонта, попередження випадіння зубів, скорочення періоду реабілітації після щелепно-лицьових операцій.

Величезна кількість досліджень довела ефективність застосування плазми збагаченої тромбоцитами у загоєнні хронічних ран та трофічних виразок шкіри різної етіології [76, 95, 161].

Використання PRP в нейрохірургії та неврології дозволяє зняти запальний процес, прискорити регенерацію пошкоджених нервових стовбурів, покращити трофічні та регенеративні процеси у між хребцевих дисках [34, 108].

Також значно кількість клінічних та експериментальних досліджень присвячена можливості використання PRP у гінекології (стимуляція відновлення слизової оболонки при ерозіях, лейкоплакії, ендоцервіцитах, вагінітах, краурозах, покращення результатів реконструктивних операцій), репродуктивній медицині (покращення результатів екстракорпорального запліднення), хірургії плода, урології (відновлення слизової оболонки при циститах, уретритах, реконструктивна урологія).

Застосування PRP в косметології та трихології має на меті покращення обмінних процесів у шкірі, лікування рубців, зменшення випадіння волосся та покращення його структури.

В літературі нами було знайдено лише одне експериментальне дослідження, присвячене використанню PRP при виразках шлунку. Дослідження полягало у моделюванні ацетатної виразки (AB) шлунку у щурів та внутрішньошлунковому введенні двічі на добу (з 3 по 7 день експерименту) людської плазми збагаченої тромбоцитами. В якості речовини порівняння вводилася плазма біда на тромбоцити. Результати дослідження вказують на прискорене загоєння виразок в групі щурів, яким вводилася PRP. Проте, на нашу думку, дане дослідження не можна вважати достовірним, так

як, по-перше, принаймні, VEGF є видоспецифічним, а, отже, застосування його у іншого виду не буде ефективним. По-друге, їжа у щурів затримується в шлунку не більше двох годин, а, отже, вплив факторів росту, що до того ж, знаходяться в тромбоцитах на виразковий дефект слизової оболонки викликає сумніви.

1.5. Репаративні можливості аутологічного очищеного ліпоаспірату

Жирова тканина розвивається з ембріональної мезенхіми. У дорослої людини до складу жирової тканини входять жирові клітини – адипоцити, а також клітини, що складають стромально–васкулярну фракцію жирової тканини: преадипоцити, ендотеліальні та гладком’язові клітини кровоносних судин, периваскулярні фібробласти та підтримуюча волокниста колагенова строма. У стромі була виявлена популяція стовбурових/прогеніторних клітин з мультилінійним потенціалом диференціювання, багато в чому схожих із мезенхімальними стовбуровими клітинами, які походять із кісткового мозку. Враховуючи, що жирова тканина в значних кількостях (до 300 мл. і більше) може бути отримана під місцевою анестезією при порівняно малоболючій косметичній ліпосакції, чи ліпоаспірації підшкірної жирової клітковини або шляхом ексцизії жирових відкладень, ця тканина може являтися альтернативним кістковому мозку джерелом мезенхімальних стовбурових клітин для трансплантації та тканинної інженерії [26, 27, 36, 37, 38, 42, 46, 53, 172, 173, 185].

На даний момент накопичено досвід успішного застосування мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні таких захворювань, як інфаркт міокарда [48, 77, 165, 176], кардіоміопатії [35, 43, 107, 128], цукровий діабет [41, 68, 82, 122], токсичні гепатити та печінкова недостатність [96, 120, 132, 184], різні імунопатологічні стану [34, 100, 130, 135]. Крім того, вони можуть бути використані для лікування наслідків опіків різної локалізації та етіології [52, 101, 150, 179], келоїдних та гіпертрофічних рубців [72, 83, 106,

169], загоєння трофічних виразок та при ішемії нижніх кінцівок [55, 131, 137, 187], а також в травматології та щелепно-лицевій хірургії [36, 47, 129, 147, 174, 175]. Особливий інтерес представляють імуносупресивні властивості мезенхімальних стовбурових клітин та відповідне застосування їх для лікування імунопатологічних станів, причому не тільки таких важких як “реакція трансплантат проти хазяїна” та розсіяний склероз, а й таких, що часто зустрічаються як, наприклад, алергічні реакції різної етіології та тяжкості. Відомо, що мезенхімальні стовбурові клітини здатні пригнічувати функціональну активність Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, дендритних клітин та природних кілерів, причому ця система працює за принципом зворотного зв'язку.

1.6. Сучасні підходи до лікування хронічних виразок

На даний момент у всьому світі лікування хронічної виразки шлунку регулюється національними та міжнародними стандартами та протоколами, що, в переважній своїй більшості, базуються на Маастрихтському консенсусі IV перегляду прийнятого 12–13 листопада 2010 року у Флоренції (Італія).

Маастрихтський консенсус IV визначає стратегію ведення пацієнтів із підтвердженою інфекцією *Helicobacter pylori*, і, на відміну, від попередніх редакцій (1996, 2000, 2005), враховує недосліджену диспепсію, функціональну диспепсію, гастроєзофагальну рефлексну хворобу, НПЗЗ-гастропатії та негастроентерологічні захворювання.

В Україні на даний момент діє “Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги. Пептична виразка шлунка та дванадцятипалої кишки у дорослих”, затверджений Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 613 від 3 вересня 2014 року [28].

Алгоритм діагностики та лікування виразки згідно чинного протоколу зображено на рис. 1.2.

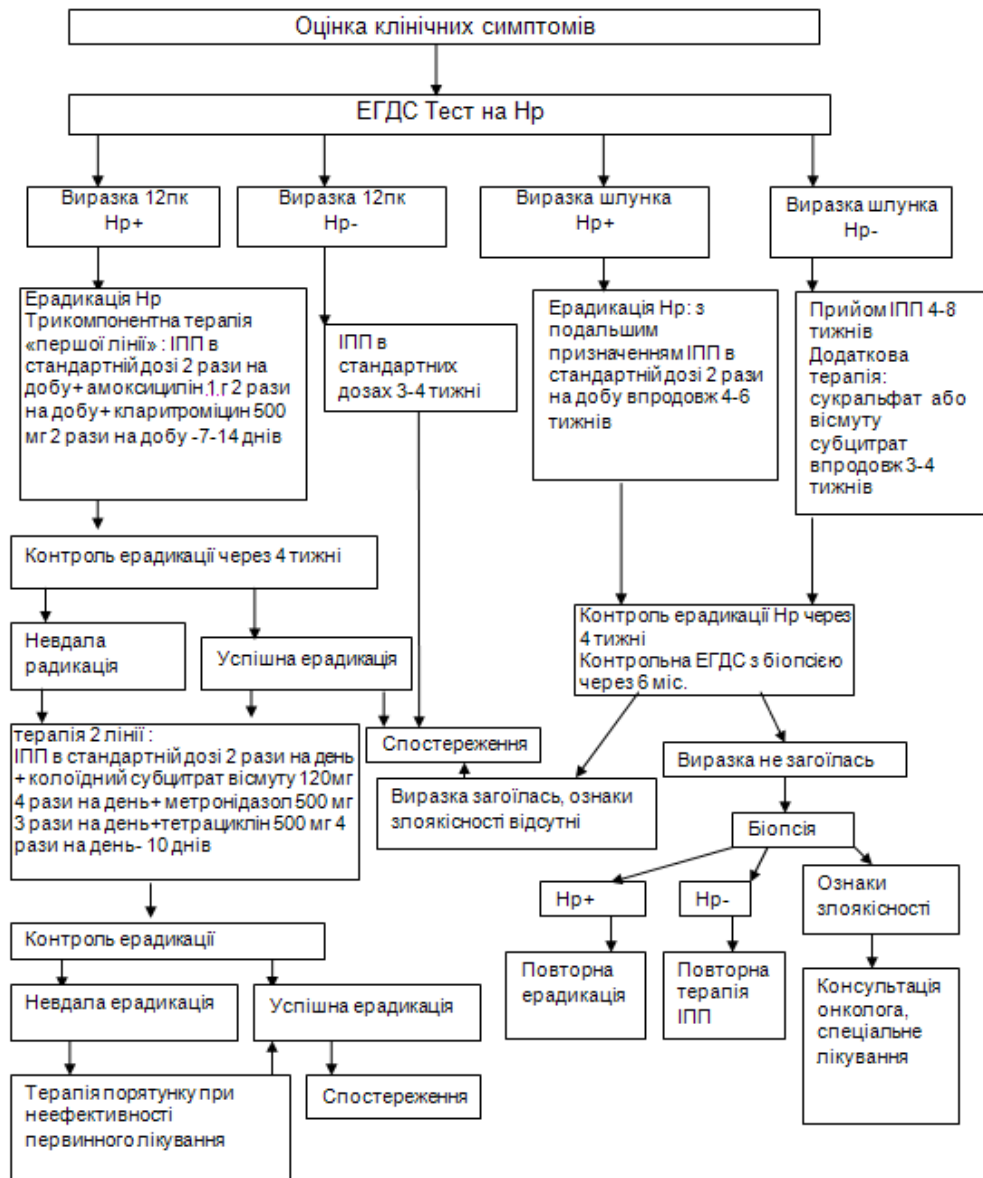


Рис. 1.2. Алгоритм діагностики та лікування виразки.

Метод лікування, спосіб прийому та дозування лікарських засобів визначається перебігом захворювання та індивідуальною відповіддю пацієнта, наявністю інфекції *Helicobacter pylori*. Антихелікобактерна терапія при виразці шлунка призначається тільки після отримання результатів морфологічного дослідження біоптатів із краю виразкового дефекту, що свідчать про доброякісний характер виразки. Біоптати отримують під час езофагогастродуоденоскопії (ЕГДС).

При призначенні лікування обов'язковим є:

1. Надання загальних рекомендацій щодо режиму харчування, праці та відпочинку, відмови від вживання алкоголю та тютюну.
2. Призначення медикаментозної терапії (всі лікарські засоби необхідно приймати перед їжею):
 - 2.1. При *Helicobacter pylori*–позитивній виразці пацієнтам, які раніше не лікувалися від інфекції *Helicobacter pylori*, призначають ерадикаційну антихелікобактерну терапію однією зі схем першої лінії: стандартна трикомпонентна терапія або послідовна терапія.
 - 2.2. При неефективності трикомпонентної або послідовної терапії, непереносимості або резистентності до кларитроміцину призначають терапію другої лінії (квадротерапію).
 - 2.3. При відсутності ерадикації інфекції *Helicobacter pylori* призначають терапію “порятунку”.
 - 2.4. При *Helicobacter pylori*–позитивній виразці, асоційованій з прийомом НПЗЗ, та за відсутності ускладнень після проведення антихелікобактерної терапії призначаються інгібітори протонної помпи (ІПП) в стандартній дозі або H_2 –гістаміноблокатори в подвійній дозі впродовж 14–28 днів в залежності від локалізації виразки; додатково можуть бути призначені сукральфат, вісмуту субцитрат.
 - 2.5. При *Helicobacter pylori*–негативній виразці та за відсутності ускладнень призначають ІПП в стандартних дозах впродовж 3–4 тижнів при дуоденальній локалізації виразки, 4–8 тижнів – при виразках шлунка.

Щодо хірургічного лікування виразок шлунка, то кількість оперативних втручань суттєво знизилася з початком застосування інгібіторів протонової помпи [112]. Оперативні втручання виконують в переважній більшості випадків при ускладненому перебігу захворювання – кровотечі, перфорації, пенетрації, малігнізації [56, 60, 80, 91, 118, 142, 144, 151, 153, 156, 158, 166, 167, 181, 188, 189, 190].

При цьому, оперативні втручання з приводу кровотечі та перфорації виконуються лише в ургентному порядку, а хірургічне лікування пенетруючих та малігнізованих виразок є плановим.

На даний час планові оперативні втручання при відсутності ускладнень є поодинокими і, як правило, направлені на ліквідацію виразкового дефекту при тривалому перебігу його загоєння. До планових оперативних втручань вдаються у випадках, коли відсутня позитивна динаміка при застосуванні консервативної терапії протягом більше 12 тижнів.

Планове хірургічне лікування може бути виконане відкритим або лапароскопічним способом, а спосіб та об'єм його виконання, як правило, підбирається в індивідуальному порядку [134].

Лікування хронічних виразок шлунку, що погано регенерують, із використанням мініінвазивних технологій

В сучасній літературі є ряд повідомлень про використання мінімально інвазивних технологій для прискорення репаративного процесу у виразкових дефектах шлунку, що погано регенерують.

Натомість впровадження ендоскопічної хірургії у лікувальний процес при ускладненому перебігу виразкової хвороби продемонструвало свої переваги і на даний час його ефективність не викликає сумнівів [21, 32, 49, 57, 59, 63, 66, 69, 79, 80, 81, 86, 98, 103, 114, 119, 127, 145, 157, 159, 168].

Малоінвазивні технології, що використовуються в хірургії шлунково-кишкового тракту в даний час стрімко розвиваються, стають більш високотехнологічними та безпечними. Їх використання стає більш зручним та доступним.

Саме тому, на нашу думку, вивчаючи можливість застосування мініінвазивних методик при хронічних виразках, що погано регенерують, необхідно знайти оптимальний баланс між ефективністю застосування методу та фінансовими затратами, пов'язаними із цим.

Так, на даний момент є повідомлення про використання аплікації та ін'єкції різних препаратів, використання локального електрофорезу медикаментозних засобів, лазерного опромінення виразкових дефектів, місцеві блокади больових рецепторів та кислото продукуючої зони шлунку для мініінвазивного лікування хронічних виразок.

Ряд досліджень демонструє, що аплікація на виразковий дефект фібринового клею з метою зупинки кровотечі або її профілактики, не лише надійно захищає судини у дні виразки від агресивного вмісту шлунку, а й прискорює загоєння і, відповідно, зменшує тривалість лікування [84, 85]. Крім фібринового клею, з метою механічного захисту поверхні виразки використовували клеї МК-6, МК-7, МК-8; МИРК, лифузоль, статизоль, гастрозоль.

З метою прискорення репарації виразкових дефектів використовували ендоскопічні аплікації аутогенного кріопреципітату, рослинних препаратів (обліпихова олія, комадол, олазоль, гіпозоль, натурсил), озонованих масел, препаратів плаценти (плазан) [31].

Стимуляцію репарації також виконують шляхом периульцелярного введення репаратів, таких як солкосерил, актовегін, даларгін та інших, введення в дно та по краях виразки препарату аллоплант, натрієвої солі ДНК (препарат деринат) [10, 20].

В ряді робіт висвітлено позитивний вплив на загоєння виразкових дефектів метиленового синього та аскорбінової кислоти, що вводилися як компоненти ін'єкційного гемостазу при гастродуоденальних кровотечах виразкового генезу [3, 30].

Величезна кількість робіт присвячена використанню лазерного опромінення виразкових дефектів. Так, автори досліджень відмічають, що результати стандартного лікування покращуються при поєднанні його з квантової терапією. Вже після двох–трьох процедур відмічалось зниження запальної реакції, больового синдрому, покращувалася мікроциркуляція та відбувалася перебудова тканини дна виразкового дефекту. Крім того,

прискорювалися процеси регенерації за рахунок накопичення пластичних матеріалів та усунення тканинної гіпоксії, а також посилювалася активність ферментів, що приймають участь у окисно-відновних процесах. Також, слід відзначити позитивний вплив лазерного опромінення на локальні імунологічні процеси.

Використання локального контактного внутрішньопорожнинного медикаментозного електрофорезу в комплексному лікуванні хворих із хронічними гастродуоденальними виразками із застосуванням оригінального електроду для порожнистих органів дозволило скоротити строки загоєння виразкових дефектів, покращити якість післявиразкового рубця, а також знизити кількість ускладнень та рецидивів у досліджуваному контингенті.

Декілька робіт доводять ефективність ендоскопічної медикаментозної блокади кислотопродукуючої зони на рівні підслизового шару фундального відділу шлунку. Так, виконання даної маніпуляції призводило до значного і досить тривалого зниження базальної продукції кислоти в середньому на 45–55%, максимальної продукції кислоти на 35–40%. При цьому, у більшості хворих не спостерігалось порушень моторно-евакуаторної функції стравоходу, шлунку та дванадцятипалої кишки, та збільшення вираженості склеротичних та атрофічних змін з боку слизової оболонки шлунку. Крім того, виконання даної процедури призводило до швидкого згасання загострення виразкового процесу і загоєнню хронічної дуоденальної виразки практично у всіх пацієнтів, та забезпечувало ремісію захворювання у строки від 1 до 3 років більш ніж у 70% із них.

В літературі є дані щодо використання ендogaстральної інсуфляції озону, а також монооксиду азоту з використанням апарату “Плазон” [Хрячков и др., 2009]. Також відомо, що у разі кальозних виразок застосовувалося скушування країв виразки біопсійними щипцями.

В останні роки з’являються повідомлення про успішне використання стовбурових клітин у лікування виразок шлунку в експерименті [2, 71, 73, 104, 133, 170, 177].

1.7. Моделювання виразки шлунку в експерименті

В літературі описана велика кількість експериментальних моделей виразки шлунку у піддослідних тварин.

Модель індометацинової виразки.

Експериментальним тваринам – щурам після двох годин знаходження без їжі та води внутрішньошлунково вводять індометацин в дозі 4,5–5 мг/кг маси. Введення продовжують протягом 5 днів. Спосіб забезпечує утворення однієї або кількох виразок, що супроводжуються кровотечею і перфорацією, одночасно в шлунку, в тонкому та товстому кишечнику.

Модель іммобілізаційної виразки [19].

Тварині виконують інфільтраційну анестезію в паравертебральній області з двох сторін, після чого здійснюють механічний вплив на хребет на рівні Th₁₀–L₅, при цьому роблять зміщення хребця вліво або вправо відносно осі хребта на 0,3–0,8 см і потім фіксують це положення хребців в корсеті протягом 1–1,5 тижнів. Спосіб дозволяє моделювати множинні виразки шлунка та дванадцятипалої кишки, що мають різні розміри та часто супроводжуються кровотечею.

Модель аутоімунної виразки [22].

Тварині виконують дворазове введення в 1 та 10 дні водно-сольового антигену, що містить суміш гомогенату аллогенної слизової оболонки шлунка у фізіологічному розчині і повного ад'юванта Фрейнда, при співвідношенні компонентів суміші 1:2. Додатково вводять на 15 день водно-сольовий антиген, що містить суміш гомогенату аллогенної слизової оболонки шлунка у фізіологічному розчині і неповного ад'юванта Фрейнда, при співвідношенні компонентів суміші 1:1. Спосіб дозволяє моделювати поодинокі або множинні виразки шлунку.

Модель механічної виразки [23].

Парентерально послідовно вводять атропін, пентамін, обзидан, натрію оксидутират. Після цього здійснюють механічне пошкодження слизового і

м'язового шарів шлунка. Спосіб дозволяє моделювати поодинокі або множинні виразки шлунку із заданими діаметром та глибиною.

Модель механічної виразки [24].

Для моделювання в обраний відділ шлунка вводять зонд відповідного діаметру. На робочому кінці зонда розміщують капсулу, що складається з однорідної твердої речовини, що тоне при температурі тіла. В окремому випадку в якості твердої речовини, що тоне при температурі тіла, використовують лід. Усередині капсули розташований згорнутий еластичний двосічний стрижень. В окремому випадку еластичний двосічний стрижень виконаний з ніхрому. Зонд витягають. Під дією температури тіла капсула тоне, стрижень розпрямляється і пошкоджує стінку шлунка. Спосіб дозволяє моделювати у великих та середніх лабораторних тварин дзеркальні виразки шлунку, проте може ускладнюватися перфорацією.

Всі описані вище моделі виразки шлунку мають ряд недоліків, які не дозволяють змоделювати виразкове ураження шлунку із заданою кількістю та розмірами. Крім того, виразкові дефекти за морфологічною картиною лише віддалено нагадують хронічну виразку шлунку людини.

Цих недоліків позбавлені моделі ацетатної виразки шлунку, яка морфологічно є ідентичною хронічній виразці шлунку людини, а тому являється еталонною моделлю виразки у всьому світі [138].

Ацетатна виразка, I тип.

Субмукозне введення в м'язовій частині шлунка у щурів 0,03мл 20% оцтової кислоти із послідуочим пальцевим притисненням місця ін'єкції протягом 45 секунд.

Ацетатна виразка, II тип.

Серозна аплікація 100% оцтової кислоти 6 мм бавовняною кулькою протягом 30 секунд (дванадцятипала кишка) або 60 секунд (м'язова частина шлунка).

Ацетатна виразка, III тип.

Інтралюмінальне введення 0,2 мл 60% оцтової кислоти через вікончатий пінцет із діаметром вікна 9 мм, накладений на м'язову частину шлунку, протягом 45 секунд. В результаті цього утворюються дзеркальні виразки однакових розмірів на передній та задній стінках шлунку.

Ацетатна виразка, IV тип.

Інтралюмінальне введення 0,1 мл 60% оцтової кислоти та 0,1 мл повітря через вікончатий пінцет із діаметром вікна 9 мм, накладений на м'язову частину шлунку, протягом 45 секунд. В результаті цього утворюється одна виразка на задній стінці шлунку.

Модель ацетатної виразки шлунку забезпечує ураження не лише слизової оболонки та підслизового шару, а й м'язової оболонки, що є критерієм хронічної виразки шлунку.

Також, слід зауважити, що, згідно літературних даних, ацетатна виразка є тривало регенеруючою, із терміном загоєння більше 250 днів, при умові відсутності лікувальних заходів.

Недостатня ефективність консервативної терапії виразкової хвороби стимулює до пошуку нових методів корекції даної патології. Детальне вивчення та розуміння локальних процесів у виразкових дефектах дозволяє прогнозувати та моделювати процес репарації за власним бажанням, що особливо доцільно було б виконувати шляхом локального впливу.

Таким чином, використання мініінвазивних технологій та клітинної трансплантації є перспективним напрямком у лікування хронічних виразок, що тривало регенерують. Ендоскопічне введення клітинних стимуляторів репарації може значно покращити безпосередні результати лікування у даного контингенту пацієнтів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика груп експериментальних тварин

Експериментальне дослідження проводилося на базі віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Всі досліді виконувалися з дозволу комітету з біоетики, згідно “Положення про використання тварин в біомедичних дослідках”, з дотриманням основних положень Хельсинської декларації про гуманне ставлення до тварин (1964-2000 р.), GLP (1981 р.), Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин (1977 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р..

У дослідження було включено 98 білих лабораторних щурів, обох статей віком до 1 року і вагою від 120 до 220 г (186 ± 17 г).

Першу серію дослідів, яка полягала у оптимізації моделі симетричних виразкових уражень шлунку, проводили на 14 щурах. Тварини були порівну поділені на контрольну (моделювання симетричних виразок шлунку за методикою Susumi Okabe, 2005 – ацетатна виразка III типу) та дослідну групи (модифікована методика Susumi Okabe із використанням авторського пристрою). Загальна кількість виразкових дефектів при цьому складала 28 – по 14 в кожній групі.

Другу серію дослідів, яка полягала у порівнянні ефективності запропонованих способів прискорення регенерації виразкових дефектів шлунку, проводили на 84 щурах.

Контрольну групу склали 12 щурів, на яких було змодельовано симетричні виразкові ураження шлунку. Загальна кількість виразкових дефектів складала 24.

В інші 4 групи ввійшли по 18 щурів зі змодельованими симетричними виразками шлунку та наступною стимуляцією репаративних процесів у виразці передньої стінки шлунка. Першу групу склали щури, яким з метою прискорення репарації локально вводили аутологічний очищений ліпоаспірат, другу групу – щури, яким локально вводили даларгін, третю – плазму збагачену тромбоцитами, четверту – комбінацію плазми збагаченої тромбоцитами та даларгіну. Таким чином в кожній групі налічувався 18 виразковий дефект із корекцією репаративних процесів та 18 – без корекції.

2.2. Характеристика обстежуваного контингенту

В основу клінічної частини дисертаційної роботи покладено проспективне дослідження, що включало 50 пацієнтів із підтвердженим діагнозом хронічної виразки шлунку. Даний контингент пацієнтів проходив лікування у клініці кафедри хірургії №1 з курсом “Основи ендоскопічної та лазерної хірургії” Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова на базі ендоскопічного та хірургічного відділень Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М.І. Пирогова протягом 2015 року.

Критеріями відбору пацієнтів для нашого дослідження були:

1. Вік пацієнтів більше 18 років.
2. Підтверджений ендоскопічно та гістологічно діагноз хронічної виразки шлунку, що погано регенерує (12 і більше тижнів).
3. Виразкові дефекти середніх (1–2 см) та великих (2–3 см) розмірів.
4. Відсутність клінічно значимої супутньої патології.

Серед обстежених пацієнтів особи жіночої статі склали 22 (44,0%), чоловічої – 28 (56,0%). Середній вік пацієнтів складав $46,9 \pm 10,4$ років. Для жінок цей показник складав $46,3 \pm 10,5$, для чоловіків – $47,4 \pm 10,4$.

Гендерно-віковий розподіл пацієнтів обстежуваного контингенту згідно вікових груп, запропонованих Всесвітньою організацією охорони здоров'я, наведено на рис. 2.1.

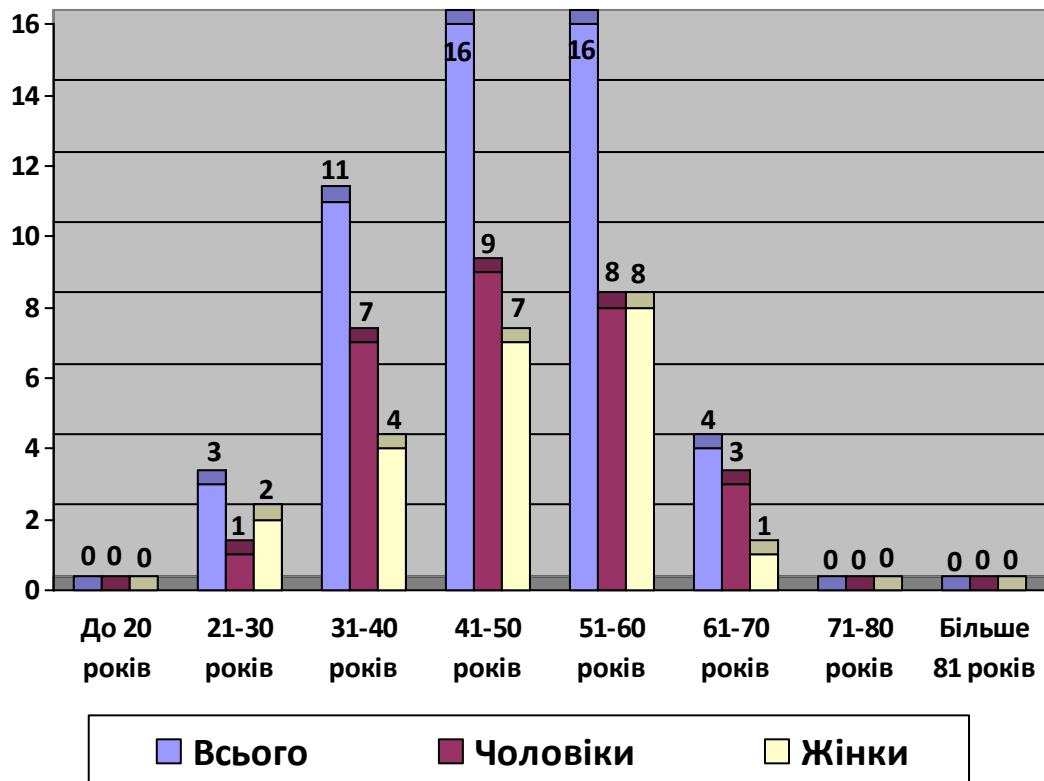


Рис. 2.1. Діаграма гендерно-вікового розподілу пацієнтів нашого дослідження.

Як видно із діаграми (рис. 2.1), незалежно від статі пік захворюваності припадав на вікову групу 41–60 років. Жодного пацієнта віком до 20, або старше 70 років в дане дослідження включено не було через невідповідність критеріям відбору.

Всім пацієнтам призначався основний діагностичний захід у вигляді езофагогастродуоденоскопії. Під час ініціального ендоскопічного дослідження особлива увага зверталася на локалізацію та розміри виразкових дефектів.

За локалізацією хронічних виразок шлунку пацієнти розподілялися наступним чином (рис. 2.2).

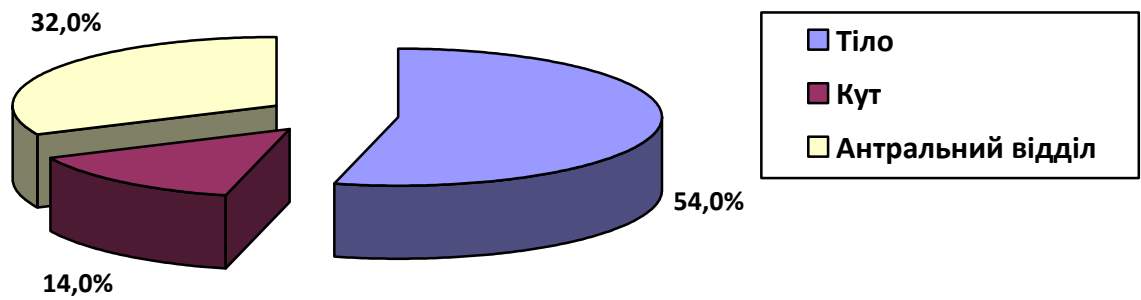


Рис. 2.2. Діаграма локалізації хронічних виразок шлунку.

Як видно із даної діаграми (рис. 2.2), переважна більшість виразкових дефектів локалізувалася в тілі шлунку – 27 (54,0%). Локалізація виразки в антральному відділі була суттєво рідшою – 16 (32,0%). Виразка кута шлунку мала місце у 7 (14,0%) пацієнтів. Незалежно від локалізації виразкового дефекту частота виникнення виразки була вищою у чоловіків ніж у жінок, або мала таку тенденцію.

Детальна локалізація виразкових дефектів наведена в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Детальна локалізація виразкових дефектів шлунку

Локалізація	Кількість хворих
Передня стінка тіла	3 (6,0%)
Задня стінка тіла	12 (24,0%)
Мала кривизна тіла	8 (16,0%)
Велика кривизна тіла	4 (8,0%)
Задня стінка кута	3 (6,0%)
Мала кривизна кута	4 (8,0%)
Передня стінка антрального відділу	3 (6,0%)
Задня стінка антрального відділу	6 (12,0%)
Мала кривизна антрального відділу	4 (8,0%)

Велика кривизна антрального відділу	3 (6,0%)
Всього	50

Так, найбільша кількість виразок була локалізована на задній стінці – у 12 (24,0%), та малій кривизні тіла шлунку – 8 (16,0%) пацієнтів. Локалізація на задній стінці антрального відділу мала місце у 6 (12,0%) випадках. Решта локалізацій зустрічалися дещо рідше – в межах 6–8%. Жодна виразка субкардіального та кардіального відділів шлунку, а також пілоричного каналу в дослідження включена не була.

Щодо розмірів виразкового дефекту, то, як зазначалося раніше, в дане дослідження були включені пацієнти лише із виразками середніх (1–2 см) та великих (2–3 см) розмірів. Як видно із діаграми (рис. 2.3), в дослідженні переважали виразки середніх розмірів, які мали місце у 31 (62,0%) пацієнта. Виразкові дефекти великих розмірів були наявні у 19 (38,0%) пацієнтів.

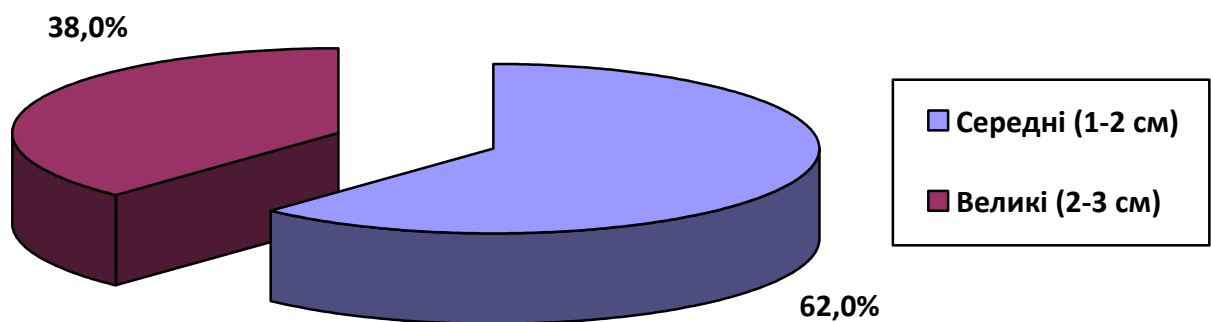


Рис. 2.3. Діаграма розмірів виразкових дефектів шлунку.

За обсягом отриманого лікування пацієнти були розподілені на дві групи – дослідну групу (n=23 (46,0%)) та групу порівняння (n=27 (54,0%)).

Всім пацієнтам призначалася медикаментозна противиразкова терапія згідно “Уніфікованого клінічного протоколу первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги – Пептична виразка шлунка та

дванадцятипалої кишки у дорослих” (Наказ Міністерства охорони здоров’я України №613 від 3 вересня 2014 року). В усіх випадках, при наявності підтвердженої інфекції *Helicobacter pylori*, призначалася ерадикаційна терапія.

Проте, у пацієнтів дослідної групи, стандартна противиразкова терапія доповнювалася ендоскопічною ін’єкцією в перульцерозну зону плазми збагаченої тромбоцитами, що й являлося критерієм розподілу пацієнтів нашого дослідження на групи.

2.3. Характеристика методів експериментальної частини дослідження

2.3.1. Експериментальна модель симетричних виразкових уражень шлунку

Для моделювання виразки шлунку на початку дослідження було обрано модель симетричних виразкових уражень за методикою Susumu Okabe, 2005 – ацетатна виразка III типу.

Методика полягає у інтралюмінальному введенні 0,2 мл 60% оцтової кислоти через вікно вікончатого пінцета, накладеного на м’язову частину шлунку, протягом 45 секунд. В результаті цього утворюються дзеркальні виразки однакових розмірів на передній та задній стінках шлунку.

Проте дана методика має ряд недоліків. Так, після затискання передньої та задньої стінок шлунку між браншами вікончатого затискача, стінки щільно прилягають одна до одної, а тому технічно важко при введенні оцтової кислоти розмістити кінчик голки між ними. Крім того, оцтова кислота, що знаходиться під тиском у просторі між передньою та задньою стінками шлунку, може виходити у черевну порожнину через канал у стінці шлунку створений голкою, що веде до утворення внутрішньої шлункової нориці, локального перитоніту та стимулює спайковий процес. Ще одним недоліком є те, що після зняття вікончатого затискача, оцтова кислота

потрапляє у порожнину шлунку, де може створювати додаткові виразкові ураження.

Тому, нами було запропоновано пристрій для моделювання симетричних виразкових уражень шлунку (позитивне рішення по заявці на Патент України на корисну модель). Відсутність описаних недоліків досягається тим, що голка вводиться в порожнину шлунка до затискання бранш вікончатого затискача, а точка її введення знаходиться на віддалі від місця моделювання виразкових дефектів. Крім того, голка залишається між браншами затискача до моменту його зняття, тобто дослідник має можливість видалити практично весь об'єм введеної оцтової кислоти.

Пристрій для моделювання симетричних виразкових уражень шлунку зображено на рис. 2.4.



Рис. 2.4. Пристрій для моделювання симетричних виразкових уражень шлунку.

Перевірку переваг розробленого пристрою було проведено в першій серії дослідів.

В зв'язку із тим, що вікончатий затискач із діаметром вікна 9 мм, який використовувався в оригінальній методиці нами знайдений не був, у всіх дослідах ми використовували затискач із розмірами вікна 7x5 мм, а об'єм оцтової кислоти, відповідно, зменшували до 0,1 мл.

Всіх тварин утримували на стандартному раціоні з вільним доступом до води та їжі, в умовах віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

З метою забезпечення спорожнення шлунку, перед дослідями тварини залишалися на 12 годин без доступу до їжі, але із вільним доступом до води.

Всі досліді виконувалися в умовно стерильних умовах, під кетаміновим наркозом із розрахунку 0,22 мл на 100 грам маси тіла піддослідної тварини.

У контрольній групі, що налічувала 7 щурів, було виконання моделювання виразок шлунку за методикою Susumu Okabe, 2005.

Після загального знеболення піддослідній тварині виконували верхньо-серединну лапаротомію. У лапаротомну рану виводили шлунок.

Вікончатий затискач із розкритими браншами позиціонували на м'язовій частині шлунку піддослідної тварини таким чином, щоб одна із бранш прилягала до передньої стінки шлунка, а інша – до задньої. Бранші затискача закривали. Через вікно бранші, розташованої на передній стінці шлунка шприцом із голкою калібру 30G вводили 0,1 мл 60% оцтової кислоти, а голку видаляли. Час аплікації складав 45 секунд, після чого затискач знімали. Шлунок вправляли в черевну порожнину. Після ревізії черевної порожнини та промивання її розчином декасану, лапаротомну рану ушивали пошарово наглухо.

У дослідній групі (7 щурів) моделювання виразок проводили із використанням розробленого пристрою.

Під загальним знеболенням піддослідній тварині виконували верхньо-серединну лапаротомію. У лапаротомну рану виводили шлунок (рис. 2.5).



Рис. 2.5. Етап моделювання симетричних виразкових уражень шлунку. Шлунок введений в лапаротомну рану.

Модифікований затискач із розкритими вікончатими браншами позиціонували на м'язовій частині шлунку піддослідної тварини таким чином, щоб одна із вікончатих бранш прилягала до передньої стінки шлунка, а інша – до задньої. Після цього ін'єкційну голку калібру 30G проводили через дистальну частину L-подібного фіксатора модифікованого затискача і в умовно безсудинній ділянці проколювали велику кривизну шлунка таким чином, щоб не пошкодити судини. Ін'єкційну голку фіксували у L-подібному фіксаторі. При цьому, завдяки конструкції модифікованого затискача, кінчик ін'єкційної голки розташовувався на рівні центру вікон вікончатих бранш. Модифікований затискач закривали (рис. 2.6).

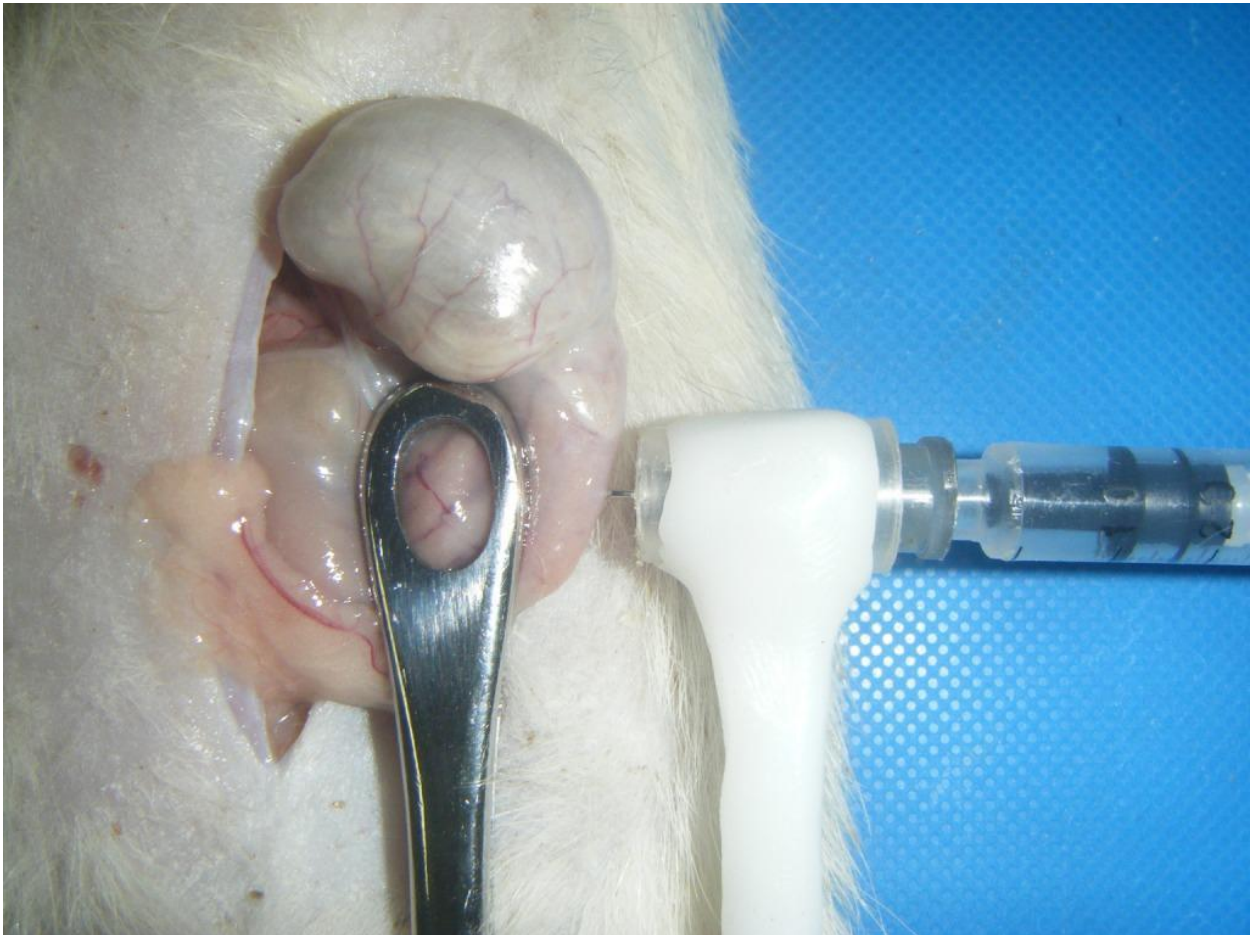


Рис. 2.6. Етап моделювання симетричних виразкових уражень шлунку. Ін'єкційна голка затиснута браншами вікончатого затискача між передньою та задньою стінкою шлунку.

Під час закриття модифікованого затискача, для попередження потрапляння повітря в простір між передньою та задньою стінками шлунку, пальцями стискали стінки шлунку в передньо-задньому напрямі через вікна вікончатих бранш. У закритому положенні затискач фіксували за допомогою замикаючого елемента. До ін'єкційної голки приєднували шприц, за допомогою якого в обмежений простір між передньою та задньою стінками шлунку вводили 0,1 мл 60% розчин оцтової кислоти на 45 секунд. Далі за допомогою цього самого шприца видаляли введену оцтову кислоту. Від ін'єкційної голки від'єднували шприц із оцтовою кислотою та приєднували шприц із фізіологічним розчином, яким промивали обмежений простір між передньою та задньою стінками шлунку шляхом триразового введення та

видалення невеликої кількості фізіологічного розчину. Вікончаті бранші модифікованого затискача розкривали, після чого видаляли ін'єкційну голку із L-подібного фіксатора, а сам модифікований затискач знімали зі шлунка. Шлунок вправляли в черевну порожнину. Виконували ревізію черевної порожнини та промивали її розчином декасану. Лапаротомну рану ушивали пошарово наглухо.

Результат експерименту оцінювали на 3 добу, коли, згідно літературних даних, формуються хронічні виразки. Для цього щурів виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під загальним знеболенням. Виконували лапаротомію та макроскопічно оцінювали стан стінок шлунку, черевної порожнини, наявність у ній ексудату. Видаляли шлунок, виконували гастротомію та макроскопічно оцінювали стан слизової оболонки. Матеріал забирали на морфологічне дослідження.

2.3.2. Експериментальне дослідження запропонованих методик прискорення репарації виразкових уражень шлунку

Для прискорення репаративних процесів у виразкових дефектах шлунку нами було запропоновано 4 методики, які полягали у введенні в підслизовий шар стінки шлунку по периметру виразок стимуляторів репарації.

Всіх тварин утримували на стандартному раціоні з вільним доступом до води та їжі, в умовах віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

З метою забезпечення спорожнення шлунку, перед всіма дослідями тварини залишалися на 12 годин без доступу до їжі, але із вільним доступом до води.

Всі досліді виконувалися в умовно стерильних умовах, під кетаміновим наркозом із розрахунку 0,22 мл на 100 грам маси тіла піддослідної тварини.

Моделювання симетричних виразкових уражень шлунку за модифікованою методикою Susumu Okabe із використанням авторського

пристрою (позитивне рішення по заявці на Патент України на корисну модель) було виконано 84 щурам, які вибірково були розподілені на 5 груп: контрольна груп, що налічувала 12 щурів та 4 дослідні групи по 18 щурів в кожній.

Оцінку стану сформованих виразкових дефектів проводили на 3 добу з моменту моделювання. Для цього вибірково відбирали по 4 щури із кожної з 5 груп.

Після обробки операційного поля всім тваринам виконували верхньо-серединну лапаротомію. Макроскопічно оцінювали стан стінок шлунку, черевної порожнини, наявність у ній ексудату. Після цього вимірювали площу сформованих виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку.

Вимірювання площі виразкових дефектів проводили з мінімальною травматизацією без виконання гастротомії за авторською методикою (позитивне рішення по заявці на Патент України на корисну модель). Методика полягала у транслюмінації стінки шлунку шляхом проведення світлового пучка від зовнішнього джерела світла по оптоволоконному кабелю, введеному через рот піддослідної тварини в порожнину шлунку. Після візуалізації виразки, до стінки шлунку прикладали стерильну прозірку із нанесеною на неї міліметровою сіткою. Підраховували кількість повних та неповних квадратів сітки розміром 1x1 мм над виразковим дефектом. Площа виразки визначалася сумою кількості всіх повних квадратів та половини кількості неповних квадратів. Показники площі фіксувалися.

Незважаючи на виведення піддослідних тварин із експерименту, нами була надана перевага прижиттєвому вимірюванню площі виразкових дефектів. Це пов'язано із тим, що після смерті тварини шлунок стає атонічним, а, отже, буде мати місце незначна зміна площі виразкового дефекту в сторону її збільшення.

Після фіксування показників площі виразок, тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців. Видаляли шлунок,

виконували гастротомію та макроскопічно оцінювали стан слизової оболонки. Матеріал забирали на морфологічне дослідження.

Досліди з прискорення репарації виконувалися на 3 добу після моделювання симетричних виразкових уражень, коли за даними морфологічного дослідження формувалися виразкові дефекти із характерними морфологічними ознаками.

Після обробки операційного поля всім тваринам виконували верхньо-серединну лапаротомію. Макроскопічно оцінювали стан стінок шлунку, черевної порожнини, наявність у ній ексудату. Після цього вимірювали площу сформованих виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку по описаній вище методиці.

Наступним етапом виконували ін'єкційне введення стимуляторів репарації в підслизовий шар стінки шлунку. Ін'єкції виконували з використанням ін'єкційної голки калібру 30G по периметру виразкового дефекту у 5 точках, розподіляючи весь об'єм, що вводився, порівну між ними.

Всім тваринам ін'єкції виконувалися лише навколо виразки передньої стінки. Таким чином, репарація виразки передньої стінки стимулювалася, на відміну від виразки задньої стінки, а, отже, результати їх загоєння можна було порівняти, як у кожній окремої піддослідної тварини, так і між контрольною та дослідною групами. Такий підхід створював додатковий контроль за чистотою експерименту.

Для прецизійного введення запропонованих речовин в стінку шлунка нами було запропоновано пристрій для керування шприцом (Патент України на корисну модель № 97617).

Пристрій має фіксуєчу та рушійну частини, фіксуєча частина складається із двох кілець для вказівного та середнього пальців кисті та фіксатора, за допомогою якого здійснюється прикріплення фіксуєчої частини до корпусу шприца, рушійна частина складається із корпусу, який має на проксимальному кінці фіксатор для прикріплення до поршня шприца,

а на дистальному кінці – опорний механізм для великого пальця кисті та фіксатор для рухомого з'єднання із корпусом шприца.

Схематично пристрій зображено на рисунку 2.7.

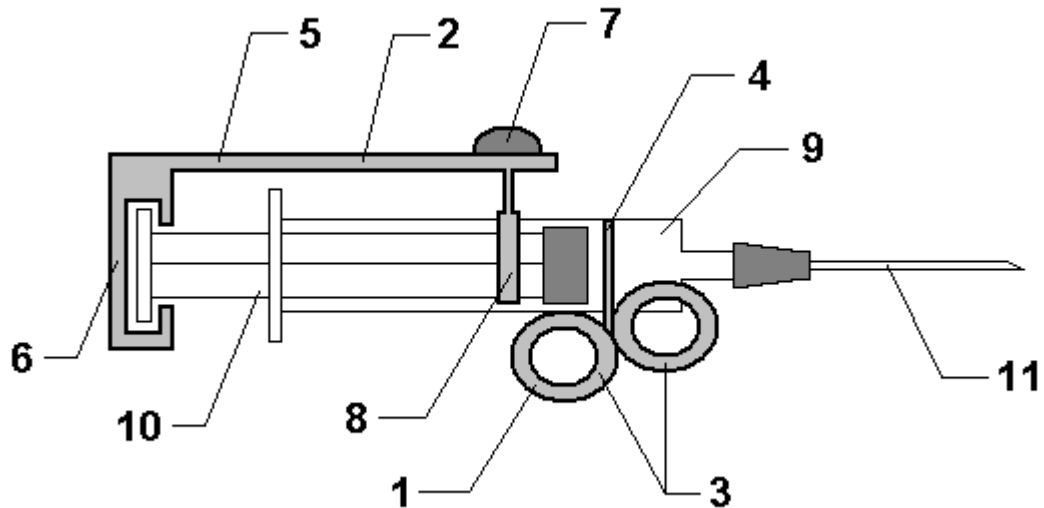


Рис. 2.7. Схематичне зображення пристрою для керування шприцом.

На рисунку 2.7 зображено наступні елементи пристрою:

1. Фіксуєча частина.
2. Рушійна частина.
3. Кільця для вказівного та середнього пальців кисті.
4. Фіксатор фіксуєчої частини для прикріплення до корпусу шприца.
5. Корпус рушійної частини.
6. Фіксатор рушійної частини для прикріплення до поршня шприца.
7. Опорний механізм для великого пальця.
8. Фіксатор для рухомого з'єднання із корпусом шприца.
9. Корпус шприца.
10. Поршень шприца.
11. Ін'єкційна голка.

Пристрій для керування шприцом зображено на рис. 2.8.



Рис. 2.8. Пристрій для керування шприцом.

Робота пристрою забезпечується наступним чином. Фіксуючу частину за допомогою фіксатора щільно та нерухомо прикріплюють до корпусу шприца. Фіксатор фіксуючої частини виконаний у вигляді затягуючого ремня, що в затягнутому положенні щільно охоплює корпус шприца і запобігає циркулярному та поздовжньому руху фіксуючої частини відносно корпусу шприца. Рушійну частину за допомогою фіксатора, який розташований на проксимальному кінці корпусу щільно та нерухомо прикріплюють до поршня шприца. Фіксатор рушійної частини виконаний у вигляді конструкції аналогічної до конструкції фіксатора фіксуючої частини та із аналогічних матеріалів. Одночасно із прикріпленням фіксатора рушійної частини до поршня шприца, виконують рухому фіксацію фіксатора для рухомого з'єднання до корпусу шприца. Фіксатор для рухомого з'єднання виконаний у вигляді півкільця із розмірами, що відповідають $2/3$ окружності корпусу шприца. Прикріплення здійснюють шляхом розведення країв на півкільця фіксатора та розміщення корпусу шприца між ними. Опорний механізм забезпечує поздовжні рухи рушійної частини разом із поршнем шприца відносно корпусу шприца із фіксованої на ньому фіксуючої частиною. Після приєднання фіксуючої та рушійної частин до шприца, вказівний та середній пальці кисті розміщують у відповідних кільцях фіксуючої частини. При цьому великий палець кисті розташовують навпроти вказівного та середнього, чим забезпечують фіксацію шприца в кисті

аналогічно до письмового приладдя. Така фіксація дозволяє здійснювати більш точні рухи, а отже і прицільно виконувати ін'єкцію. Після введення ін'єкційної голки в біологічну тканину, великий палець переміщують на опорний механізм, за допомогою якого виконують ін'єкцію необхідної кількості препарату.

В першій групі (14 щурів) в якості стимулятора репарації використовували аутологічний очищений ліпоаспірат, як донатор поліпотентних мезенхімальних стовбурових клітин.

Аутологічний очищений ліпоаспірат готували наступним чином.

Забір жирової тканини виконували під загальним знеболенням шляхом дисекції епідидимальної жирової клітковини у пахових ділянках щурів [Sunaga A. et al, 2013]. Отримана жирова тканина *in vitro* інфільтрувалася розчином Klein, який готували по стандартній методиці, а саме, на 500 мл 0,9% натрію хлориду брали 20 мл 2% лідокаїну та 1 мл адреналіну (1:1000). Після механічного подрібнення жирової тканини за допомогою ножиців, до пробірки додавали фізіологічний розчин в об'ємі 2 мл та виконували центрифугування на центрифусі ОПН-3 зі швидкістю 2500 обертів на хвилину (700g) протягом 4 хвилин. В результаті центрифугування отримували розподіл вмісту пробірки на 3 шари: верхній, що містив ліпіди, середній – клітинні елементи (аутологічний очищений ліпоаспірат), нижній – строму та клітинні елементи крові. Середній шар відбирався в окремий шприц.

Одразу після приготування аутологічного очищеного ліпоаспірату виконували трансплантацію його в об'ємі 0,1 мл, решту матеріалу відправляли на морфологічне дослідження для забарвлення гематоксиліном та еозином із наступним підрахунком кількості клітинних елементів. Середня кількість клітинних елементів становила $(1,7 \pm 0,3) \cdot 10^5$ /мл.

Щурам другої групи (14 щурів) виконували ін'єкційне введення в периульцерозну зону препарату даларгін, як засобу для зниження секреції шлункового соку.

Даларгін в об'ємі 0,1 мл (1мг/мл) розводили в 0,9 мл фізіологічного розчину. Кожній піддослідній тварині вводили 0,1 мл розведеного препарату, що відповідало 0,01 мг діючої речовини, що відповідало середній терапевтичній дозі у перерахунку на середню масу піддослідної тварини.

В третій групі (14 щурів) в якості стимулятора репарації використовували плазму збагачену тромбоцитами, як донатор факторів росту.

Плазму збагачену тромбоцитами готували наступним чином.

Для розширення хвостових вен, хвіст піддослідної тварини обробляли ксилолом. В стерильні пробірки з гепарином натрію із розрахунку 10 ОД на 1 мл досліджуваної крові проводили забір 0,5 мл крові. Кров піддавали центрифугуванню на центрифuzі ОПН-3 зі швидкістю 2500 обертів на хвилину (700g) протягом 8 хвилин. В результаті центрифугування отримували розподіл вмісту пробірки на 2 шари: верхній, що містив плазму збагачену тромбоцитами, нижній – інші клітинні елементи крові. Верхній шар відбирався в окремий шприц.

Одразу після приготування плазми збагаченої тромбоцитами виконували трансплантацію її в об'ємі 0,1 мл, решту матеріалу відправляли на морфологічне дослідження для підрахунку кількості клітинних елементів. Середня кількість тромбоцитів у трансплантованому матеріалі становила $(1250 \pm 375) \cdot 10^9$ /л, тобто перевищувала кількість тромбоцитів в цільній крові в нормі у 3-5 разів.

Щурам четвертої групи (14 щурів) виконували ін'єкційне введення в периульцерозну зону комбінації плазми збагачено тромбоцитами та препарату даларгін.

Плазма збагачена тромбоцитами готувалася по описаній вище методиці і вводилася в об'ємі 0,1 мл. Даларгін розводили аналогічно як і при виконанні дослідів в третій групі щурів і вводили в об'ємі 0,1 мл розведеного препарату, що відповідало 0,01 мг діючої речовини. Плазму збагачену тромбоцитами та даларгін змішували в одному шприці та вводили в

підслизовий шар стінки шлунку по периметру виразкового дефекту рівними об'ємами в 5 точках.

У піддослідних тварин всіх чотирьох груп після введення препарату місця ін'єкцій притискалися пальцем протягом 1 хв для попередження витікання введених засобів.

По всіх чотирьох методиках прискорення репаративних процесів у виразкових дефектах шлунку подано заявки на Патенти України на корисну модель та отримано позитивні рішення.

Шлунок вправляли в черевну порожнину. Виконували ревізію черевної порожнини та промивали її розчином декасану. Лапаротомну рану зашивали пошарово наглухо.

Результати експериментів оцінювали на 7 та 14 добу з моменту стимуляції репарації, що відповідало 10 та 17 добі експерименту, відповідно. Для цього із кожної з 4 дослідних груп випадковим чином відбирали по 7 щурів, а із контрольної групи – по 4 щури. Піддослідних тварин піддавали загальному знеболенню та виконували верхньо-серединну лапаротомію. Шлунок виводили в операційну рану. Макроскопічно оцінювали стан стінок шлунку, черевної порожнини, наявність у ній ексудату. Після цього вимірювали площу сформованих виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку по описаній вище методиці.

Після фіксування показників площі виразок, тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців. Видаляли шлунок, виконували гастротомію та макроскопічно оцінювали стан слизової оболонки. Матеріал забирали на морфологічне дослідження.

2.3.3. Морфологічне дослідження ефективності експериментальних методик прискорення репарації

Для оцінки патоморфологічних змін слизової оболонки шлунка вивчали експериментальний матеріал, отриманий від щурів після моделювання ацетатної виразки шлунка та в умовах застосування аутологічного очищеного ліпоаспірату, даларгіну, плазми збагаченої

тромбоцитами, комбінації плазми збагаченої тромбоцитами та даларгіну з подальшою фіксацією його в 10% розчині нейтрального формаліну. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксиліном та еозином, суданом III, пікрофуксином за ван Гізоном, основним коричневим за Шубічем, комбінацією основного коричневого та міцного зеленого барвника, ШИК-реакції з альціановим синім [1]. Мікроскопію та фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX 41 при збільшеннях у 40, 100, 200 і 400 разів. Отримували та обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми “QuickPHOTO MICRO 2.3”. Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1 мм²). При виконанні морфометричних досліджень керувалися основними засадами, викладеними в керівництві Автандилова Г.Г. (2007).

2.4. Характеристика методів клінічної частини дослідження

Всі клінічні маніпуляції проводилися після отримання письмової згоди пацієнтів.

Всім пацієнтам призначався основний діагностичний захід у вигляді езофагогастродуоденоскопії. Ініціальна ЕГДС виконувалася із використанням обладнання Olympus та Pentax. Під час ініціального ендоскопічного дослідження виконували поліпозиційну експрес-біопсію (5–7 ділянок) для виключення ознак малігнізації виразки шлунка (атипові клітини, дисплазія, метаплазія) та біопсію для наступного детального гістологічного та морфометричного дослідження.

Під час ендоскопічного дослідження особлива увага зверталася на локалізацію та розміри виразкових дефектів. Ми визначали 2 найбільші (поперечний та поздовжній) розміри в мм. Перемножуючи отримані показники між собою отримували площу виразкового дефекту в мм².

Крім того, за розмірами розподіляли виразкові дефекти на середні та великі.

Після виключення малігнізації виразки шлунку, а також перевірки на відповідність всім критеріям відбору у дослідження, пацієнтів розподіляли включали в одну із груп – дослідну групу або групу порівняння.

Пацієнтам обох груп призначали медикаментозну противиразкову терапію у повному обсязі згідно “Уніфікованого клінічного протоколу первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги – Пептична виразка шлунку та дванадцятипалої кишки у дорослих” (Наказ Міністерства охорони здоров’я України №613 від 3 вересня 2014 року). В усіх випадках, при наявності підтвердженої інфекції *Helicobacter pylori*, призначалася ерадикаційна терапія.

Алгоритм діагностики та лікування виразки шлунку, а також схеми та варіанти медикаментозної терапії наведені в огляді літератури, а тому зупинятися на них ми не будемо.

У кожного пацієнта дослідної групи виконували забір крові із кубітальної вени в об’ємі 8 мл. Плазма збагачена тромбоцитами готувалася у стерильних гепаринізованих скляних пробірках, вміст гепарину, в яких складав 14-20 одиниць на 1 мл крові. Центрифугування крові здійснювали на центрифусі 80-2 зі швидкістю 1500 об/хв. (приблизно 700g) протягом 8 хвилин, що давало на виході близько 4,5–5 мл плазми збагаченої тромбоцитами.

В результаті центрифугування отримували розділення крові на два шари: верхній мутний шар – плазма збагачена тромбоцитами, нижній – еритроцити та лейкоцити з незначною домішкою тромбоцитів, які знаходилися зверху. Весь верхній шар та близько 2 мм верхньої частини нижнього шару відбирали в окремий стерильний шприц.

Пробірки із центрифугованим матеріалом, розділеним на два шари зображена на рис. 2.9.



Рис. 2.9. Сепарована кров у пробірці після центрифугування.

Із кожного шприца забирали 0,1 мл плазми збагаченої тромбоцитами та відправляли на гематологічне дослідження для підрахунку кількості тромбоцитів.

Ендоскопічні ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами виконувалися із використанням одноразових ін'єкційних пристроїв виробництва Olympus. Весь об'єм препарату вводився в підслизовий шар стінки шлунку в периульцерозній зоні в 5 рівновіддалених точках і розподілявся порівну між ними.

Контрольні ендоскопічні дослідження пацієнтам обох груп виконували на 7 та 14 добу, а пацієнтам із виразковими дефектами великих розмірів також і на 21 добу.

Під час контрольних ендоскопічних досліджень вимірювали розміри виразкових дефектів із підрахунком їх площі, а також виконували

поліпозиційну експрес-біопсію (5–7 ділянок) для виключення ознак малігнізації виразки шлунка (атипові клітини, дисплазія, метаплазія).

Крім того, у всіх пацієнтів на 1, 7 та 14 добу, а у пацієнтів із виразковими дефектами великих розмірів також і на 21 добу визначали якість життя за даними опитувальника GSRS.

Опитувальник GSRS (Gastrointestinal Symptom Rating Scale) використовується для оцінки якості життя гастроентерологічних хворих і містить 15 питань. Кожне питання оцінюється по семибальній шкалі – від 1 до 7 балів, після чого середній бал по питаннях, що входять до певного синдрому, який вивчається.

Питання групуються у 5 синдромів:

1. DS (діарейний синдром) – питання 11, 12, 14.
2. IS (диспепсичний синдром) – питання 6, 7, 8, 9.
3. CS (констипаційний синдром) – питання 10, 13, 15.
4. AP (синдром абдомінального болю) – питання 1, 4.
5. RS (рефлюксний синдром) – питання 2, 3, 5.

Особливу увагу приділяли питанням 1 (біль або дискомфорт у верхніх відділах живота або в ділянці шлунку) та 4 (голодні болі), які характеризують абдомінальний больовий синдром.

Показники в межах 1–2 балів свідчать про нормальну якість життя.

Градація больових відчуттів в опитувальнику GSRS була наступною:

1. Не турбували – 1 бал.
2. Незначний дискомфорт – 2 бали.
3. Помірний дискомфорт – 3 бали.
4. Середній дискомфорт – 4 бали.
5. Відносно сильний (проте терпимий) дискомфорт – 5 балів.
6. Сильний дискомфорт – 6 балів.
7. Дуже сильний дискомфорт – 7 балів.

Зразок опитувальника GSRS наведено у Додатку В.

Паспортні дані пацієнтів, дані обстежень, а також інформація про лікувальну тактику щодо кожного пацієнта реєструвалися у спеціально розробленій нами Kartі реєстрації клінічних даних пацієнта (Додаток А).

Karta реєстрації клінічних даних пацієнта складалася із наступних розділів:

1. Паспортна частина, в якій вказувалися прізвище, ім'я, по-батькові пацієнта, його стать, вік, відділення госпіталізації, номер історії хвороби, дати поступлення та виписки (смерті), та клінічний діагноз.
2. Клінічні дані. Даний розділ включав дані щодо ендоскопічних досліджень, виконання та результатів експрес-біопсії, та біопсії з наступним морфологічним дослідженням, локалізацію, розміри та площу виразкових дефектів, характер лікування та показники якості життя за даними опитувальника GSRS (Gastrointestinal Symptom Rating Scale, Шкала AP (Abdominal Pain) – Синдром абдомінального болю) протягом всього терміну дослідження.

Для оцінки патоморфологічних змін слизової оболонки шлунка вивчали біоптати, отримані на 1, 7, 14 добу від початку лікування. Дослідний матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксилином та еозином, суданом III, пікрофуксином за ван Гізоном, основним коричневим за Шубічем, комбінацією основного коричневого та міцного зеленого барвника, ШИК-реакції з альціановим синім. Мікроскопію та фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX 41 при збільшеннях у 40, 100, 200 і 400 разів. Отримували та обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми “QuickPHOTO MICRO 2.3”. Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1 мм²). При виконанні морфометричних досліджень керувалися основними засадами, викладеними в керівництві Автандилова Г.Г. (2007).

2.5. Характеристика методів статистичної обробки отриманих в ході дослідження даних

Одержані дані піддавалися обробці за допомогою пакету статистичних програм SPSS 20.0 for Windows. Дані із Карт реєстрації клінічних даних пацієнта та результати експериментів вводилися у спеціальні таблиці, а в подальшому піддавалися автоматичному аналізу.

Для всіх показників обчислювалися середні арифметичні величини (M), середні квадратичні відхилення (σ) як міра дисперсії вибірок, похибки середніх величин (m). Дані представлені у вигляді $M \pm \sigma$.

Достовірність відмінностей параметричних величин із нормальним розподілом оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Якщо величина t-критерію дорівнює 2,0 та більше, то можна стверджувати, що різниця показників не випадкова, залежить від певної причини, імовірність помилки виявити неіснуючі відмінності не перевищує 5% ($p < 0,05$).

Достовірність відмінностей непараметричних величин у великих групах оцінювали за допомогою критерію χ^2 .

У невеликих групах або у випадку, коли окремі частоти були в проміжку від 6 до 20 включно, для оцінки достовірності використовували критерій χ^2 з поправкою Йетса на безперервність.

У випадку порівняння груп із кількістю спостережень меншою ніж 20, або у випадку, коли окремі частоти були меншими або дорівнювали 5, для оцінки достовірності використовували точний двосторонній критерій Фішера.

Для оцінки достовірності відмінностей непараметричних величин при невідомому розподілі використовували U-критерій Манна–Уїтні.

РОЗДІЛ 3
ХРОНІЧНІ ВИРАЗКИ ШЛУНКУ:
ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ
ТА РЕГЕНЕРАЦІЯ В УМОВАХ СТИМУЛЯЦІЇ РЕПАРАТИВНИХ
ПРОЦЕСІВ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

3.1. Дослідження ефективності запропонованої експериментальної моделі симетричних виразкових уражень шлунку

Як відмічалось раніше моделювання ацетатних виразок за методикою Susumu Okabe (2005) має ряд недоліків, до яких слід віднести важкість позиціонування ін'єкційної голки між стінками шлунку в межах вікон бранш затискача, перфорацію стінки шлунку в місці проколу із наступним формуванням внутрішньої шлункової нориці та розвитком локального перитоніту, формування додаткових виразкових дефектів стінок шлунку через потрапляння залишків оцтової кислоти в просвіт шлунку.

Саме тому, при аналізі результатів моделювання виразок за стандартною та модифікованою методиками, в першу чергу, увагу звертали на наявність та вираженість даних недоліків та їх наслідків.

Так, в контрольній групі, що налічувала 7 щурів, яким виконували моделювання ацетатної виразки за стандартною методикою Susumu Okabe (2005), у 5 (71,4%) випадках на початку ін'єкції оцтової кислоти спостерігалось витікання її через прокол голки. Це пояснюється тим, що через неможливість контролю глибини проколу, голка позиціонувалася в підслизовому шарі передньої стінки шлунку. Корекцію положення голки проводили шляхом просування її вглиб та продовжували введення оцтової кислоти. Ці 5 випадків були відмічені, як такі, що входили в групу ризику розвитку перфорації та перитоніту.

На третю добу, коли оцінювали результати моделювання виразкових дефектів у всіх 5 щурів в місці перфорації мав місце виражений спайковий процес, як наслідок хімічного опіку очеревини. Ще в одного щура відмічалася аналогічна картина, незважаючи на те, що витікання оцтової кислоти нами не спостерігалось. На нашу думку, це пояснюється травмою стінки шлунку ін'єкційною голкою під час моделювання виразок. Таким чином, у 6 (85,7%) щурів із 7 мала місце перфорація шлунку внаслідок маніпуляції.

У всіх 6 щурів у ділянці передньої стінки шлунка локалізувався щільно спаяний конгломерат, що включав петлі тонкої кишки та великий чепець. У 2 (28,6%) щурів в конгломерат входила також частка печінки. Ще у 1 щура (14,3%) відмічався спайковий процес між стінкою шлунку та передньою черевною стінкою.

Фізіологічні особливості очеревини щурів, а саме здатність до локалізації запального процесу, в сукупності із хімічним її опіком, запобігали подальшому виходу шлункового вмісту в черевну порожнину та розвитку перитоніту. Проте, саме наявність спайкового процесу унеможлилювала будь-які подальші маніпуляції в ділянці виразкового дефекту передньої черевної стінки. Не зважаючи на короткий термін розвитку процесу, спайки були досить щільні, погано розділялися. Всі намагання роз'єднання спайок завершувалися десерозацією стінки шлунку та тонкої кишки, а у випадку залучення в спайковий процес частки печінки – незначною паренхіматозною кровотечею.

Прижиттєве вимірювання площі виразкових дефектів дало наступні результати. Площа виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку достовірно не відрізнялася ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) і складала $9,8 \pm 0,8$ мм² та $9,8 \pm 1,11$ мм² відповідно.

Макроскопічне дослідження слизової шлунку виявило у всіх щурів контрольної групи сформовані дзеркальні виразкові дефекти однакових

розмірів, із заглибленим дном, вкритим фібринозним нальотом та характерним запальним валом (рис. 3.1).



Рис. 3.1. Макроскопічна картина експериментальних симетричних виразкових дефектів шлунку у щурів, 3 доба.

У 2 (28,6%) щурів відмічалися додаткові виразкові дефекти по задній стінці шлунка, ближче до великої кривизни, розмірами близько 1,5 та 2,5 мм.

Наявність додаткових виразок на задній стінці шлунка пояснюється тим, що під дією сили гравітації залишки оцтової кислоти стікали в найнижчу точку. Крім того, протягом моделювання та до моменту виходу із наркозу щурі знаходяться спочатку на спині, а згодом на боку. А, отже, вся залишкова оцтова кислота локалізується саме на задній стінці, ближче до великої кривизни.

Мікроскопічна картина була характерною для виразки шлунку та не відрізнялася від морфології хронічних виразок. На дні виразки виявлялися

безструктурні маси, злуцені епітеліоцити з домішкою лімфоцитодоподібних клітин. Під некротизованими ділянками спостерігали серед грануляційної тканини дрібні переривчасті зони фібриноїдного некрозу. Дисциркуляторні порушення були представлені у вигляді розширення судин мікроциркуляторного русла власної пластинки слизової оболонки з еритроцитарними стазами у просвітах. В окремих судинах як формені елементи, так і плазма були відсутні. Стінки як венозних, так і артеріальних судин власної пластинки слизової оболонки мали ознаки набряку, ендотелій місцями вакуолізований та десквамований. В дні виразки в ділянках прилеглих до шару грануляційної тканини судинні стінки були розрихленими, розволоknеними, місцями просочені лейкоцитарним ексудатом з лейкостазами у просвітах. Зустрічалися скупчення гемосідерофагів, множинні дрібні крововиливи, здебільшого діapedезного типу. У дні виразок грануляційна тканина складалася з вузького поверхневого шару, що містить судинні петлі та тісно розташовані запальні елементи, переважно лейкоцити, густу мережу фібрину та ряд горизонтальних фібробластів, що лежать на поверхні судинних петель. Тут мали місце набухання ендотелію, просочування стінок судин фібринозними масами і лейкоцитами, випадіння в просвіті судин згортків фібрину, закриття просвіту, контури судин при цьому іноді нечіткі, розпливчасті, стінка їх дифузно фарбується, некротизована. Шар вертикальних судин, більш глибокий, значно перевищував по своїй товщині поверхневий шар і містив вертикально розташовані судини з витягнутими вздовж них фібробластами. Між судинами багато аморфної проміжної речовини, в якій розсіяні дрібні одноядерні клітини моноцитарного ряду, макрофаги та у великій кількості – поліморфноядерні лейкоцити, переважно в поверхневих ділянках цього шару; в глибоких ділянках його, на межі з шаром горизонтальних фібробластів, нерідко зустрічаються, хоч і в невеликій кількості, еозинофільні лейкоцити, поодинокі одноядерні клітини і окремі плазматичні клітини. Глибше залягав шар горизонтально розташованих фібробластів, що

скаладався з вертикально розташованих судин та дрібних одноядерних клітини моноцитарного ряду місцями у вигляді скупчень, останні зустрічалися разом з не чисельними плазматичними клітинами. Шар цей тонкий і на поперечних зрізах виглядав в кілька разів тонше шару вертикальних судин. На поздовжніх зрізах цей процес проявлявся концентрацією клітинних елементів фібробластичного ряду, які мали орієнтовний хід перпендикулярно до дна виразки. Поперечні зрізи ядер клітин мали овальну і паличкоподібну форму. Між останніми визначались щілиноподібні просвіти, тому їх можна визначити як ендотеліальні клітини, які формували стінки новоутворених судин в безпосередній близькості до дна виразкового дефекту. Серозна оболонка в зоні виразки була стовщена.

У дослідній групі, що налічувала 7 щурів, яким виконували моделювання ацетатної виразки за модифікованою методикою Susumu Okabe із використанням авторського пристрою жодного випадку підтікання оцтової кислоти із місця проколу не спостерігалось. Це пояснюється тим, що прокол стінки шлунку виконували на віддалі від місця моделювання виразкових дефектів. Перфорації стінок шлунку, як і спайковий процес в ділянці передньої стінки шлунку, не спостерігалися. У 2 (28,6%) випадках мали місце злуки між місцем проколу та великим чепцем. Проте, через віддалене знаходження місця проколу по відношенню до виразкових дефектів, доступ до виразок як передньої, так і задньої стінок шлунку був вільним.

Прижиттєве вимірювання площі виразкових дефектів, аналогічно до контрольної групи, вказувало на відсутність достовірної різниці між площами виразкових дефектів передньої та задньої стінки ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента). Показники площі склали $9,4 \pm 1,1 \text{ мм}^2$ для передньої стінки та $9,3 \pm 1,07 \text{ мм}^2$ для задньої стінки.

Макроскопічна та мікроскопічна картина слизової оболонки була ідентичною із контрольною групою, за винятком відсутності додаткових виразкових дефектів по задній стінці шлунку. Відсутність додаткових

виразок пояснюється особливістю виконання модифікованої методики, а саме повною евакуацією залишків оцтової кислоти перед зняттям затискача із стінки шлунку.

У таблиці 3.1 кількісно підсумовано описані вище ускладнення стандартної методики моделювання симетричних виразкових дефектів, та наведена достовірність відмінностей між контрольною та дослідною групою по кожному із них.

Таблиця 3.1

Кількісні показники ускладнень стандартної та модифікованої методик моделювання виразкових дефектів

Недоліки методики	Кількість випадків у групах		Достовірність відмінностей
	Контрольна (n=7)	Дослідна (n=7)	
Важкість позиціонування ін'єкційної голки	5 (71,4%)	0 (0%)	p<0,05
Перфорація та спайковий процес	6 (85,7%)	0 (0%)	p<0,01
Додаткові виразкові дефекти	2 (28,6%)	0 (0%)	p>0,05

Як видно із таблиці 3.1 при використанні авторської методики, позиціонування голки виконувалося достовірно легше (p<0,05, точний двосторонній критерій Фішера), а наявність таких ускладнень маніпуляції, як перфорація передньої стінки шлунку та спайковий процес в цій ділянці зустрічалися достовірно рідше (p<0,01, точний двосторонній критерій Фішера). Хоча додаткові виразкові дефекти при використанні авторської методики не спостерігалися в жодному випадку, статистично достовірність підтверджена не була (p>0,05, точний двосторонній критерій Фішера).

Крім того, при порівнянні площі усіх виразкових дефектів нами не було встановлено достовірної різниці між контрольною та дослідною

групами ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента). При цьому показники площі склали $9,8 \pm 0,93$ мм² для контрольної групи та $9,3 \pm 1,2$ мм² для дослідної групи.

Висновки:

1. Застосування запропонованої модифікації моделі симетричного виразкового ураження шлунка не лише дозволило достовірно полегшити позиціонування ін'єкційної голки ($p < 0,05$ за точним двобічним критерієм Фішера), а й повністю виключити перфорації та спайкоутворення – ускладнення, що унеможливають здійснення подальших маніпуляцій на передній стінці шлунка, притаманні стандартній методиці.

3.2. Перебіг процесу загоєння виразкових дефектів шлунку у щурів в умовах стимуляції репаративних процесів

Як на 7, так і на 14 добу експерименту жодного летального випадку зафіксовано не було. Всі тварини активні, рухливі, адекватно реагують на зовнішні подразники, активно харчуються. Жодних особливих змін поведінки не зафіксовано.

Перебіг процесу загоєння виразкових дефектів на 7 та 14 добу з моменту стимуляції репарації оцінювали, в першу чергу, макроскопічно.

Після виконання лапаротомії та ревізії черевної порожнини як на 7, так і на 14 добу, у всіх групах жодного випадку перитоніту внаслідок перфорації стінки шлунку виявлено не було. Масивний спайковий процес також не спостерігався. В окремих випадках мали місце незначні зрощення передньої стінки шлунку із великим чепцем. Відсутність втягнення в спайковий процес інших сусідніх органів черевної порожнини (петлі тонкої кишки, частки печінки) пояснюється тим, що саме великим чепцем вкривалося місце проколу після виконання обколювання виразкових дефектів стимуляторами репарації та ревізії черевної порожнини. Такі зрощення стінки шлунку та великого чепця виникали в місцях ін'єкційних проколів стінки шлунку і, можливо, пов'язані із незначними огріхами у техніці виконання маніпуляції. Проте, в жодному випадку зрощення не перешкоджали прижиттєвій візуалізації та вимірюванню площі виразкових дефектів.

Не залежно від групи спостереження, на **7 добу** жодних особливих морфологічних змін нами не було помічено.

Результати прижиттєвого вимірювання площі виразкових дефектів на 7 добу наведені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Результати вимірювання площі виразкових дефектів в контрольній та дослідних групах на 7 добу

Група		Площа виразкового дефекту, мм ²		Достовірність відмінностей всередині групи
		Передньої стінки	Задньої стінки	
AB	К	10,0±1,04	10,0±0,91	p>0,05
Л/а	1	9,5±1,47	9,5±1,08	p>0,05
Даларгін	2	9,8±0,8	10,3±0,8	p>0,05
PRP	3	9,8±1,3	9,7±0,95	p>0,05
PRP + Даларгін	4	9,9±1,39	9,7±0,56	p>0,05

Примітка. К – контрольна група.

Статистичний аналіз даних із таблиці 3.2 не виявив жодних статистичних відмінностей як в межах кожної групи (порівняння площі виразкових дефектів передньої та задньої стінки), так і при порівнянні даних всіх груп між собою (p>0,05, t-критерій Ст'юдента).

Натомість, на 14 добу у всіх дослідних групах спостерігалось значне зменшення розмірів виразкових дефектів передньої стінки шлунку, а в частині випадків навіть повне загоєння їх. Кількість випадків повного візуального загоєння виразкових дефектів передньої стінки шлунку наведено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Кількісні показники повного загоєння виразкових дефектів передньої стінки шлунку в умовах стимуляції репарації та у її відсутності на 14 добу

Групи Дефекти	АВ	Л/а	Даларгін	PRP	PRP + Даларгін
	К	1	2	3	4
Загоєні	0 (0%)	2 (28,6%)	3 (42,9%)	5 (71,4%)* ^(К)	6 (85,7%)** ^(К)
Не загоєні	7 (100%)	5 (71,4%)	4 (57,1%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)
Всього	7	7	7	7	7

Примітка. К – контрольна група.

* Результати відрізняються достовірно, $p < 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера.

** Результати відрізняються достовірно, $p < 0,01$, точний двосторонній критерій Фішера.

В дужках біля кількості випадків загоєння наведено групи, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах однієї строки.

Як видно із таблиці 3.3, в контрольній групі жодного випадку повного загоєння виразок не спостерігалось, в групі 1 візуально відмічалось загоєння 2 (28,6%) виразкових дефектів, в групі 2 – 3 (42,9%), в групі 3 – 5 (71,4%), в групі 4 – 6 (85,7%) виразкових дефектів.

При статистичному порівнянні результатів загоєння виразкових дефектів було знайдено статистично достовірну різницю між групою 3 (застосування PRP) та контрольною групою ($p < 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера), а також між групою 4 (застосування PRP та даларгіну) та контрольною групою ($p < 0,01$, точний двосторонній критерій Фішера). При цьому, результати у групах 3 та 4 достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера). Аналогічно, жодних достовірних відмінностей між іншими дослідними групами, а також при порівнянні цих

груп із контролем статистично доведено не було ($p > 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера).

Результати прижиттєвого вимірювання площі виразкових дефектів на 14 добу наведені в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Результати вимірювання площі виразкових дефектів в контрольній та дослідних групах на 14 добу

Група		Площа виразкового дефекту, мм ²		Достовірність відмінностей всередині групи
		Передньої стінки	Задньої стінки	
АВ	К	9,9±0,99** ^(К)	10,0±0,91	$p > 0,05$
Л/а	1	4,3±3,03** ^(К)	9,6±1,24	$p < 0,01$
Даларгін	2	3,3±3,16** ^(К)	10,0±1,11	$p < 0,01$
PRP	3	0,86±1,46** ^(К) , * ⁽¹⁾	9,57±1,2	$p < 0,01$
PRP + Даларгін	4	0,5±1,32** ^(К) , * ⁽¹⁾	9,86±1,25	$p < 0,01$

Примітка. К – контрольна група.

* Результати відрізняються достовірно, $p < 0,05$, t-критерій Ст'юдента.

** Результати відрізняються достовірно, $p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента.

В дужках біля показників площі виразкових дефектів наведено групи, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах одного стовпчика.

Як видно із таблиці 3.4, у контрольній групі площі виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента), що пояснюється відсутністю стимуляції репарації. Натомість, у всіх дослідних групах, де стимуляція реparatorних процесів мала місце, було статистично доведено достовірні відмінності між аналогічними показниками ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Дані результати свідчать про те, що стимуляція процесів репарації у виразкових дефектів передньої стінки шлунку будь-яким із виконаних методів дозволяє достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) прискорити процес загоєння виразок, а саме зменшити їх площу.

Крім того, аналізуючи дані таблиці 3.4 ми оцінювали ефективність всіх застосованих методик між собою, порівнюючи між собою площі виразкових дефектів лише передньої стінки шлунку.

Так, нами було виявлено достовірно кращі результати загоєння виразок шлунку в умовах локальної стимуляції репаративних процесів (у всіх 4 дослідних групах), порівняно із контролем, де загоєння відбувалося в звичайних умовах ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Також статистично достовірно методики із використанням плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном краще стимулювали процеси репарації, ніж застосування аутологічного очищеного ліпоаспірат ($p < 0,05$, t-критерій Ст'юдента). При цьому достовірних відмінностей між показниками третьої та четвертої дослідних груп нами доведено не було ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

При аналізі динаміки перебігу репаративного процесу (таблиця 3.3, 3.4), ми порівнювали площі виразкових дефектів передньої стінки шлунку у всіх групах на 7 та 14 добу. Так, на 14 добу було продемонстровано достовірно кращі показники ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) у всі дослідних групах у порівнянні із аналогічними показниками на 7 добу. Натомість, в контрольній групі зменшення площі виразкових дефектів не було, тобто жодних достовірних змін не відбулося ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

Графічне зображення динаміки репаративних процесів у виразкових дефектах передньої стінки шлунку зображено на рис. 3.2.

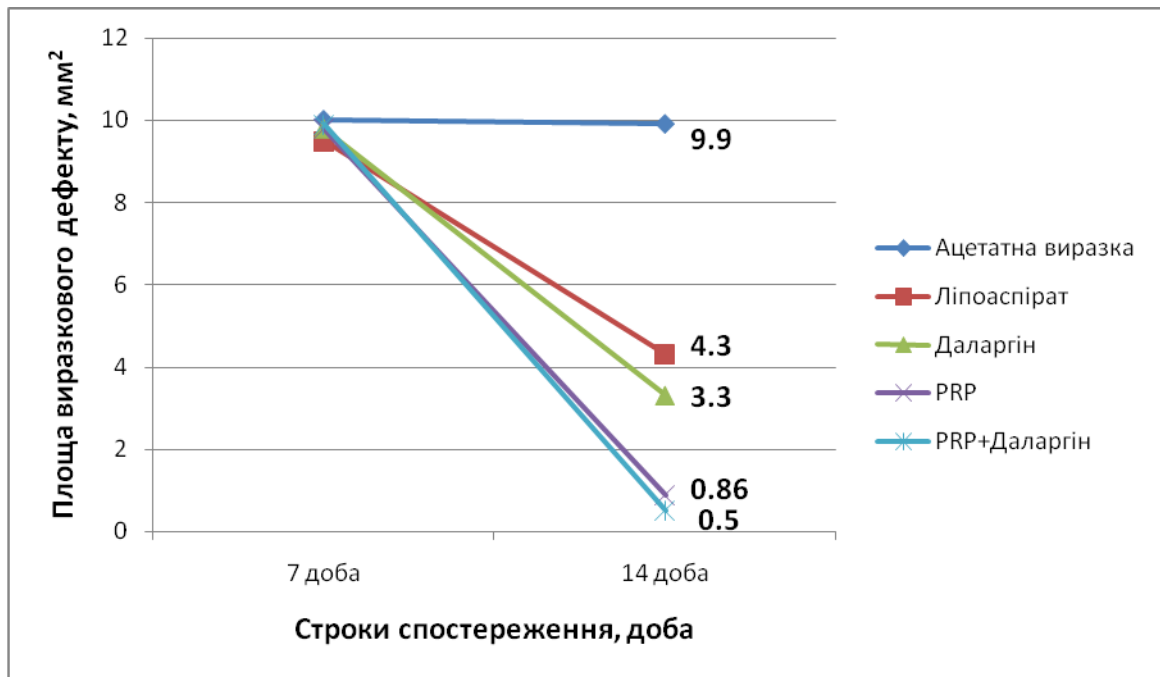


Рис. 3.2. Динаміка репаративних процесів у виразкових дефектах передньої стінки шлунку.

Таким чином, найкращі показники прискорення репаративного процесу, порівняно із контрольною та іншими дослідними групами, було продемонстровано при використанні плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном.

Висновки:

1. Застосування будь-якого із запропонованих стимуляторів репаративних процесів дозволяє достовірно прискорити загоєння виразкових дефектів шлунку ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).
2. Серед чотирьох запропонованих методик прискорення загоєння виразкових дефектів найкращі результати були отримані при використанні плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном, при цьому достовірних відмінностей між даними двома групами нами виявлено не було ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

3.3. Морфогенез експериментальних ацетатних виразок в умовах стимуляції репаративних процесів

Відновлення виразкового дефекту є ключовим моментом хірургічної реабілітації хворих на виразкову хворобу, що забезпечує високу якість життя пацієнта та сприяє підвищенню можливостей соціально-трудової реабілітації.

Одними з сучасних методів хірургічного лікування виразки шлунку, що дозволяють зберегти орган та його функціональну активність є відеоендоскопічні та лапароскопічні мініінвазивні методи із застосуванням біологічно активних препаратів. Щодо термінів репарації виразок шлунку після застосування мініінвазивних технологій із застосуванням біологічно активних речовин до теперішнього часу немає єдиної точки зору. Це свідчить про необхідність розробки нових технологій та пошуку нових біологічних стимуляторів для покращення термінів загоєння. Крім того, виконання мініінвазивної операції повинно забезпечувати не тільки відновлення дефекту слизової оболонки (СО) шлунку, але й її функції.

Аналіз і прогнозування регенераторних процесів у зоні виразкового дефекту базується на результатах морфологічних досліджень. Ось чому, в даному підрозділі метою нашого дослідження було – вивчити патоморфологічні зміни, що виникають у СО шлунку при моделюванні ацетатної виразки під впливом ліпоаспірату, даларгіну та плазми збагаченої тромбоцитами, для оптимізації термінів лікувальної та профілактичної тактик хворих на виразкову хворобу.

Всі морфологічні зміни нами оцінювалися на 7 та 14 добу з моменту стимуляції репарації, що відповідало 10 та 17 добі (з моменту моделювання АВ) експерименту, відповідно. Для зручності, в подальшому викладенні матеріалу ми будемо описувати зміни саме на 7 та 14 добу, для більш наглядного охарактеризування процесу репарації.

При гістологічному аналізі ацетатної виразки шлунку після сьомої доби експерименту виявлено перевагу деструктивно-запальних змін у СО

шлунку. Так, поверхневий епітелій слизової оболонки в зоні виразкового дефекту був некротизований та десквамований, в прилеглих до виразки субепітеліальних відділах СО виявлено інфільтрацію сегментоядерними лейкоцитами та лімфоцитами, місцями з фовеолярною гіперплазією СО, набряком власної пластинки та дисциркуляторними змінами у просвітах судин. Морфологічна будова ацетатної виразки була класичною: на поперечному розрізі виразка мала форму усіченої піраміди, край виразки, звернений до стравоходу, був підритий, СО нависала над дефектом (рис. 3.3).

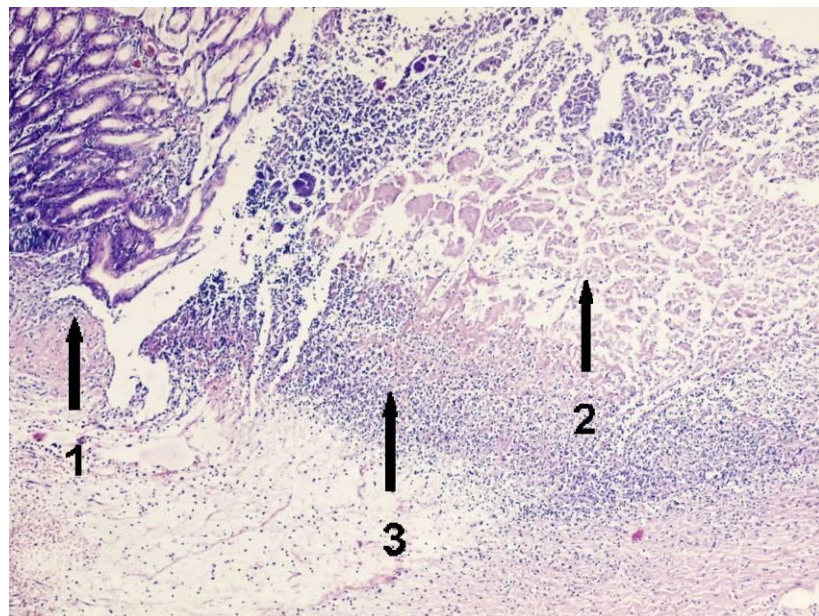


Рис. 3.3. Край ацетатної виразки шлунку (1) з широкою зоною фібриноїдного некрозу (2) та лейкоцитарного ексудату (3). АВ, 7 доба. Забарвлення – гематоксилін та еозин, x100.

Край, звернений до воротаря – пологий. Такий вид країв обумовлений зсувом шарів при перистальтиці шлунку.

Мікроскопічний аналіз виявляв характерну поверховість на даному терміні спостереження: зовнішній шар у дні та краях виразки представлений фібринозно-гнійним або гнійним ексудатом. За ним іде зона фібриноїдного некрозу, глибше якої розташовується шар грануляційної тканини, а ще глибше – фібробласти.

На дні виразки виявлялися безструктурні маси, злуцені епітеліоцити з домішками лімфоцитодоподібних клітин. Під некротизованими ділянками спостерігалися, серед грануляційної тканини, дрібні переривчасті зони фібриноїдного некрозу. Дисциркуляторні порушення були представлені у вигляді розширення судин мікроциркуляторного русла власної пластинки СО з еритроцитарними стазами у просвітах. В окремих судинах як формені елементи, так і плазма були відсутні. Стінки як венозних, так і артеріальних судин власної пластинки СО з ознаками набряку, ендотелій місцями вакуолізований та десквамований. В дні виразки в ділянках прилеглих до шару грануляційної тканини судинні стінки були розрихленими, розволоknеними, місцями просочені лейкоцитарним ексудатом з лейкостазами у просвітах. Зустрічалися скупчення гемосідерофагів, множинні дрібні крововиливи, здебільшого діapedезного типу.

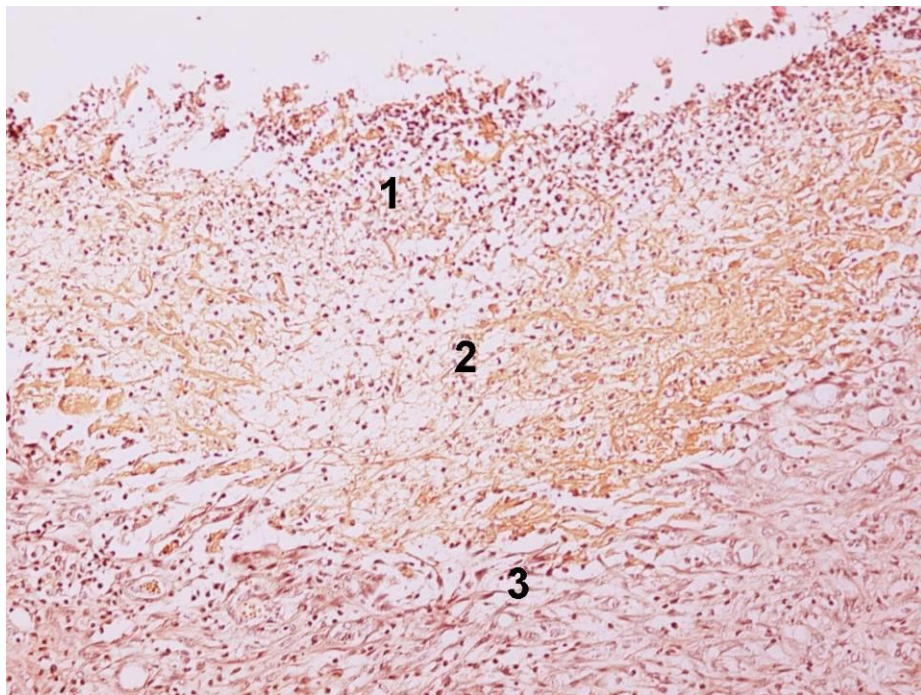


Рис. 3.4. Зона фібриноїдного некрозу (1) з підлеглим шаром грануляційної тканин (2) та горизонтально розташованими фібробластами (3). АВ, 7 доба. Зabarвлення – за Ван-Гізон, х200.

Найбільш постійним морфологічним проявом регенераторних процесів в області виразок є розростання грануляційної тканини. Ця тканина подібна до тканини, що вистилає поверхню ран, які загоюються. В дні АВ вона складалася з вузького поверхневого шару, що містить судинні петлі і тісно розташовані запальні елементи, переважно лейкоцити (рис. 3.4), густої сітки фібрину та ряду горизонтальних фіброblastів, що лежать на поверхні судинних петель.

У цьому шарі постійно зустрічалися наступні зміни судин: набухання ендотелію, просочування стінок судин фібринозними масами та лейкоцитами, випадіння в просвіті судин згортків фібрину, закриття просвіту. Контури судин при цьому іноді були нечіткі, розпливчасті, стінка їх дифузно фарбувалася, була некротизованою. Описані зміни спостерігалися і в капілярних петлях поверхневого шару у всіх зразках, хоча і не у всіх судинах.

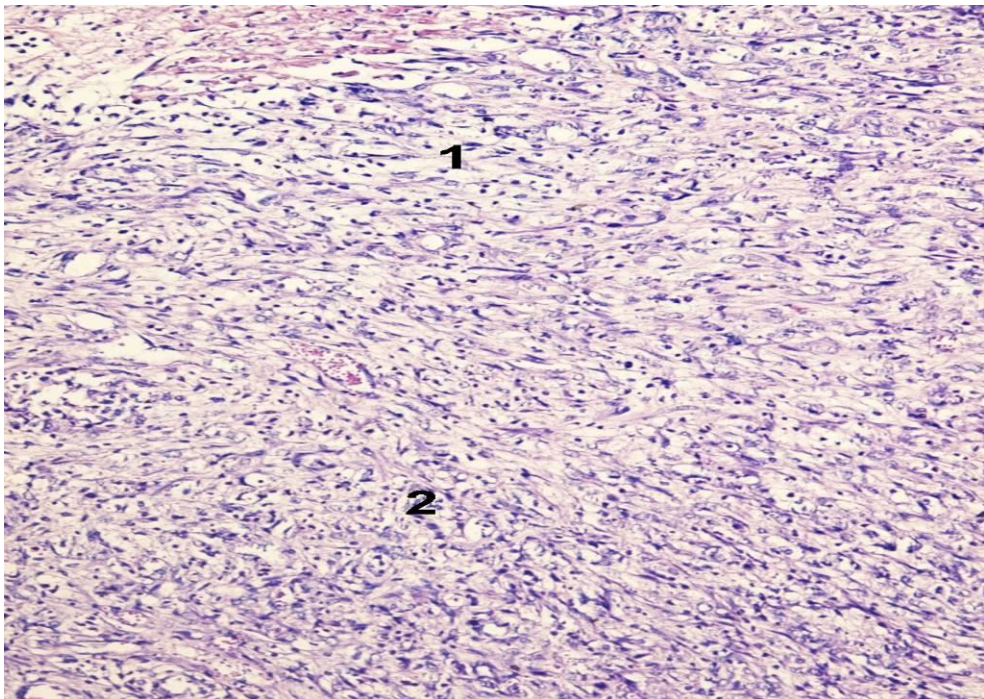


Рис. 3.5. Шар горизонтально (1) та вертикально (2) розташованих судин з великої кількості запальних елементів та фіброblastів в дні виразки. АВ, 7 доба. Зabarвлення – гематоксилін та еозин, x100.

Шар вертикальних судин був більш глибоким, значно перевищував по своїй товщині поверхневий шар і містив вертикально розташовані судини з витягнутими вздовж них фібробластами (рис. 3.5) між судинами багато аморфної проміжної речовини, в якій розсіяні дрібні одноядерні клітини моноцитарного ряду, макрофаги та у великій кількості – поліморфноядерні лейкоцити (ПЯЛ), переважно в поверхневих ділянках цього шару; в глибоких ділянках його, на межі з шаром горизонтальних фібробластів, нерідко зустрічаються, хоч і в невеликій кількості, еозинофільні лейкоцити, поодинокі одноядерні клітини і окремі плазматичні клітини.

Найбільш глибоким був шар горизонтально розташованих фібробластів, що складався з вертикально розташованих судин та дрібних одноядерних клітин моноцитарного ряду місцями у вигляді скупчень. Останні зустрічалися разом з нечисельними плазматичними клітинами. Шар цей тонкий і на поперечних зрізах виглядав в кілька разів тонше шару вертикальних судин. На поздовжніх зрізах цей процес проявлявся концентрацією клітинних елементів фібробластичного ряду, які мали орієнтовний хід перпендикулярно до дна виразки. Поперечні зрізи ядер клітин мали овальну і паличкоподібну форму. Між останніми визначались щілиноподібні просвіти, тому їх можна визначити як ендотеліальні клітини, які формували стінки новоутворених судин в безпосередній близькості до дна виразкового дефекту.

Серозна оболонка в зоні виразки стовщена, в частині зразків спаяна з печінкою або сальником.

В групах експериментальних тварин із АВ, у яких виконували стимуляцію репаративних процесів із використанням ліпоаспірату, даларгіну, плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації PRP та даларгіну, виразки за своєю морфологічною будовою на сьому добу були схожі з ацетатною виразкою: проксимальний край виразки нависав над її кратером (рис. 3.6), дистальний край плавно переходив до СО. Шари гнійного ексудату та

фібриноїдного некрозу звернені в просвіт шлунка, під ними формувалася грануляційна тканини.

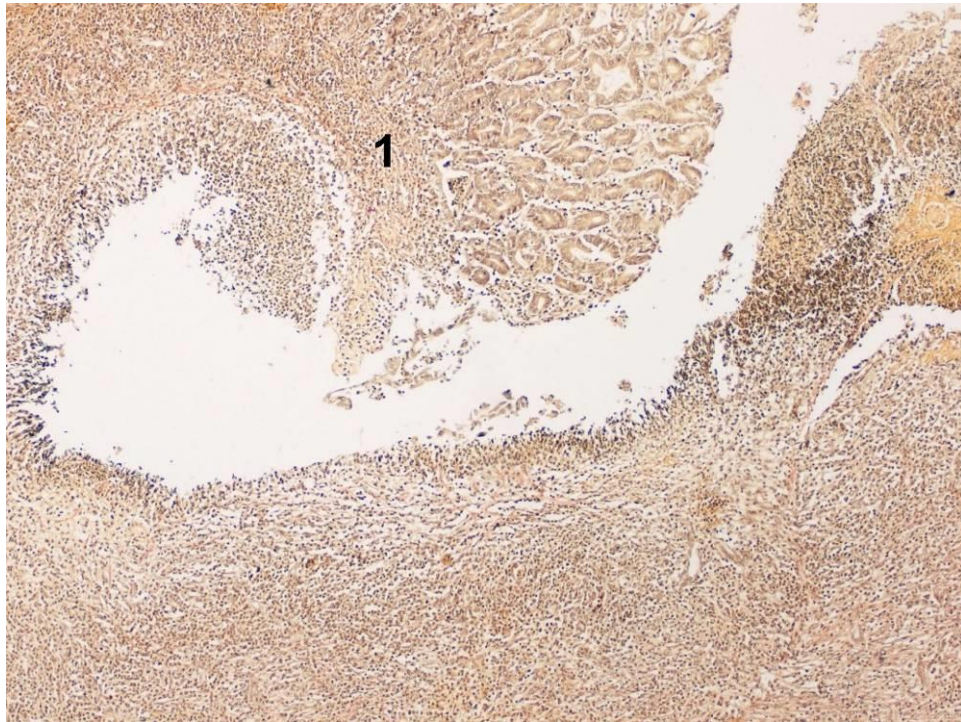


Рис 3.6. Проксимальний край виразки (1), що нависає над її кратером. Застосування даларгіну, 7 доба. Забарвлення – за Ван–Гізон, x100.

Проте, в кожній групі виявлені певні морфологічні особливості.

Так, в групі щурів з АВ, яким вводили ліпоаспірат, на сьому добу експерименту за морфометричними показниками глибина виразки, що включала в себе шар гнійного ексудату та фібриноїдного некрозу, складала $0,221 \pm 0,007$ та була достовірно менша ($p < 0,001$), ніж у тварин з АВ ($0,262 \pm 0,007$).

Показники глибини виразкових дефектів наведені у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

Показники глибини виразкового дефекту

Групи		Глибина виразкового дефекту, мм	
		7 доба	14 доба
АВ	К	0,262±0,007	0,225±0,005
Ліпоаспірат	1	0,221±0,007*(К)	0,155±0,007*(К)
Даларгін	2	0,228±0,007*(К)	0,154±0,006*(К)
PRP	3	0,189±0,010*(К)	–
PRP + даларгін	4	0,113±0,004*(К)	–

Примітки. * Результати відрізняються достовірно, $p < 0,001$, t-критерій Ст'юдента.

В дужках біля показників наведено групи, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах однієї строки.

Графічно динаміка зміни показників глибини виразкових дефектів зображено на рис. 3.7.

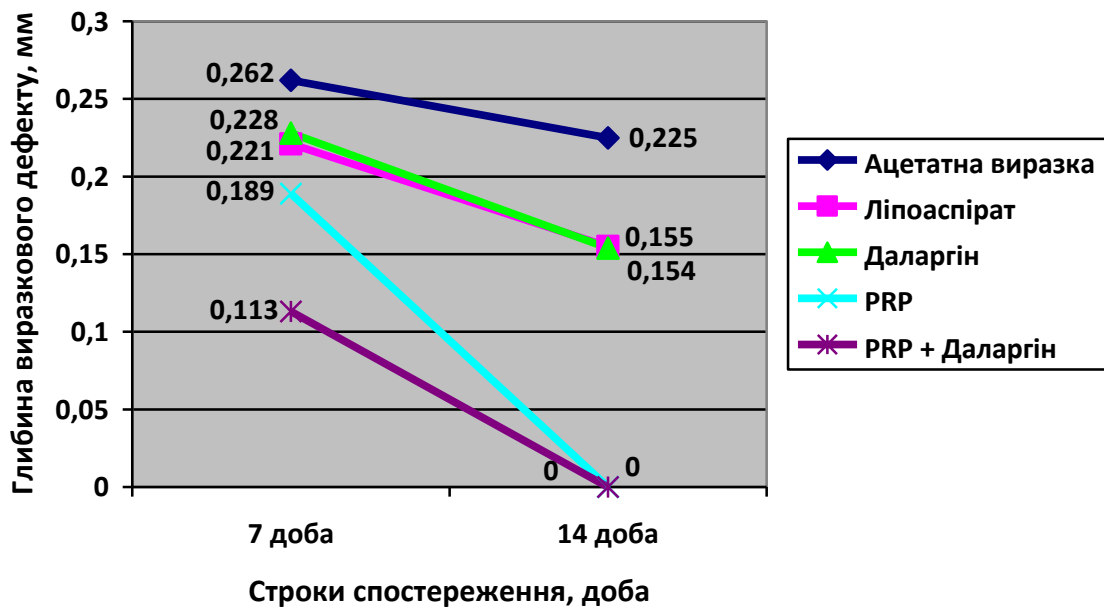


Рис. 3.7. Динаміка зміни показників глибини виразкових дефектів.

Таблиця 3.6

Щільність розташування клітинних елементів власної пластинки СО шлунку в зоні виразкового дефекту на 7 добу експерименту (із розрахунку на 1 мм²)

Клітинні елементи	Експериментальні групи				
	АВ	Ліпоаспірат	Даларгін	PRP	PRP + даларгін
	К	1	2	3	4
ПЯЛ	490 ±12,38	448±13,96 ***(К)	481±11,59	407±11,45 *(К)	340±15,49 *(К)
МФ	75,7±5,21	71±5,6	64±3,39	72±5,12	74±4,76
ЛЦ	299± 16,96	289±16,08	308±20,96	325±±9,57	328±13,64
ПЦ	61±4,33	57±4,95	63±4,22	70±4,47	66±5,81
ТБ	40±5,96	38±5,33	52±5,12	49±6,06	48±6,63
ФБ	147± 13,9	148±15,04	166±14,39	195±±15,09	198±19,82

Примітки. ПЯЛ – поліморфноядерні лейкоцити; МФ – макрофаги; ЛЦ – лімфоцити; ПЦ – плазмоцити; ТБ – тканинні базофіли; ФБ – фібробласти.

* Результати відрізняються достовірно, $p < 0,001$, t-критерій Ст'юдента.

** Результати відрізняються достовірно, $p < 0,001$, t-критерій Ст'юдента.

В дужках біля показників наведено групи, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах однієї строки.

Ступінь запальної інфільтрації у щурів, яким застосовували ліпоаспірат на фоні АВ також був менший, ніж у контрольній групі (табл. 3.6).

У групі піддослідних тварин, яким вводився даларгін глибина виразок була достовірно менша на 7 добу експерименту, проте ступінь запальної інфільтрації СО практично не відрізнявся від АВ без корекції біологічними стимуляторами, що підтверджувалося при забарвленні препаратів міцним зеленим та основним коричневим (рис. 3.8).

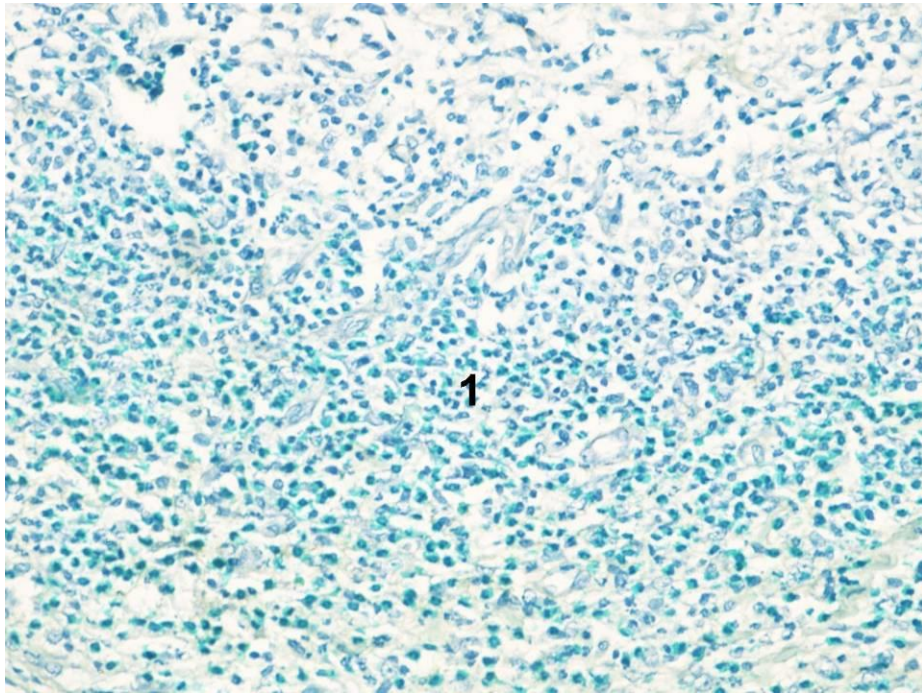


Рис. 3.8. Висока ступінь запальної інфільтрації з перевагою ПЯЛ (1) в дні виразки. Застосування даларгіну, 7 доба. Забарвлення – міцний зелений та основний коричневий, x400.

У щурів з АВ, яким вводилася плазма, як глибина, так і ступінь запальної інфільтрації в порівнянні з АВ без корекції була достовірно менша ($0,189 \pm 0,010$ та $407 \pm 11,45$ відповідно, $p < 0,001$).

Найкращі показники на сьому добу були виявлені у щурів, яким вводили плазму в комбінації з даларгіном. Як видно з таблиці 3.6, у групі експериментальних тварин із АВ після сьомої доби експерименту кількість ПЯЛ була майже в 1,5 рази більше ніж у щурів яким на фоні АВ вводили плазму в комбінації з даларгіном, що, на нашу думку, може впливати на перебіг і виразність процесу компенсаторної реакції.

В усіх досліджених групах грануляційна тканина була представлена розширеними кровоносними капілярами та клітинними елементами. Стінки кровоносних капілярів були потовщені, за рахунок чого просвіти їх були дещо звужені.

У групах із застосуванням даларгіну та плазми виявлялися певні відмінності від описаної будови та характеризувалися тим, що в шарі

вертикальних судин були виявлені окремі як би ущільнені ділянки, що містили мало аморфної проміжної речовини; в таких ділянках кровоносні судини з розташованими біля них фібробласти та клітинами макрофагального ряду розташовувалися більш тісно, ніж в ділянках, що містили багато аморфної речовини. Відповідно ущільненим ділянкам шар грануляційної тканини більш тонкий, внаслідок чого шар горизонтальних фіброblastів лежить ближче до поверхні виразки, ніж на ділянках, багатих аморфною проміжною речовиною. Поверхневий вузький шар великих фіброblastів, що розташовується уздовж судинних петель на поверхні грануляцій, в одних випадках був виражений різкіше, в інших – слабше, в окремих випадках фіброblastи втрачають свої великі розміри та більше нагадують зрілі фіброцити, ядра їх стають вузькими, темно профарбованими. Такі зрілі фіброцити спостерігалися переважно серед тяжів поверхневих новоутворених колагенових волокон та переважали в групах плазми та плазми в комбінації з даларгіном.

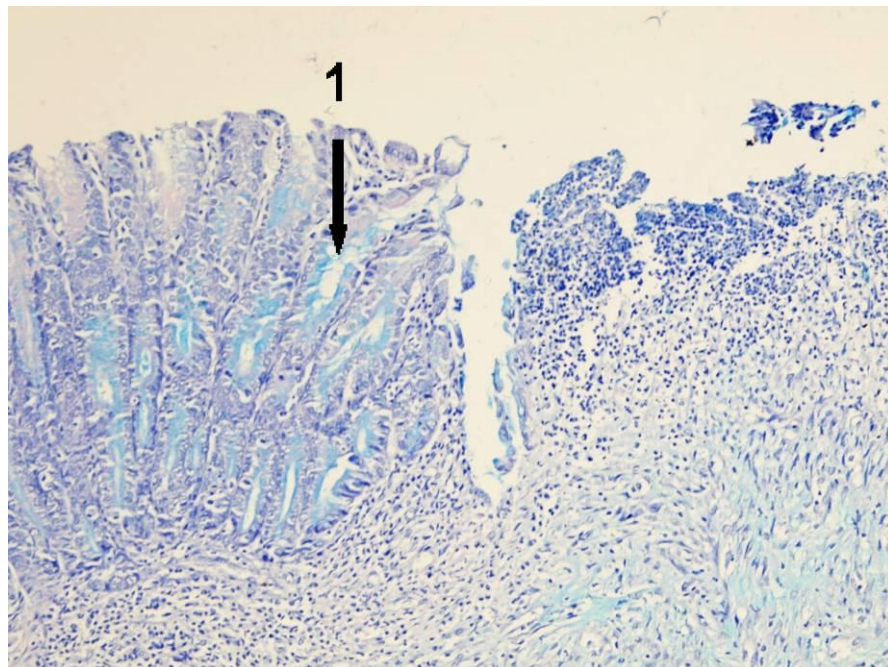


Рис. 3.9. Перевага кислих муцинів (синього кольору) (1) в цитоплазмі епітеліоцитів краю виразкового дефекту. АВ, 7 доба. Забарвлення – ШИК–реакція в комбінації з альціановим синім, x100.

По мірі наближення до зони виразки у поверхневому епітелії прогресивно збільшується кількість клітин, що утворюють слиз, що добре було помітно при забарвленні за ШИК–реакцією в комбінації з альціановим синім (рис. 3.9).

На 14 добу експерименту у щурів з АВ без корекції біологічними стимуляторами виразковий дефект прогресував та загоєння не спостерігали в жодної тварини. Патоморфологічні зміни АВ шлунка суттєво не відрізнялися від сьомої доби та характеризувалися збереженням поверховості: зовнішній шар в дні та краях виразки представлений фібринозно-гнійним або гнійним ексудатом, за ним йде зона фібриноїдного некрозу, глибше якої розташовується шар грануляційної тканини, а ще глибше – грубоволокниста фіброзна тканина. Проте, слід зазначити, що ступінь запальної реакції дещо зменшувалися у порівнянні з попереднім терміном (див. табл. 3.6). У близько половини зразків у рубцевій тканині зустрічалися ділянки фібриноїдного некрозу, що свідчило про прогресування АВ. Також характерним було розростання міофібробластів у власній пластинці та в серозній оболонці з початковими явищами атрофії СО шлунка та подальшим збільшенням кількості фібробластів, що підтверджувалося даними морфометричного дослідження – $195 \pm 15,51$ (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Щільність розташування клітинних елементів власної пластинки СО
шлунку в зоні виразкового дефекту на 14 добу експерименту
(із розрахунку на 1 мм²)**

Клітинні елементи	Експериментальні групи				
	АВ	Ліпоаспірат	Даларгін	PRP	PRP + Даларгін
	К	1	2	3	4
ПЯЛ	397±20,66	311±16,5	302±18,54	300±12,56 *(К)	304±15,5 *(К)
МФ	68±5,33	69±5,86	64±5,2	70±3,65	67±3,66
ЛЦ	359±18,7	270±18,01	227±18,97	223±15,13 *(К)	125±13,3 *(К)
ПЦ	64±4,52	54±4,76	45±3,07	48±6,46 *(К)	38±4,42 *(К)
ТБ	36±6,86	29±5,04	34±4,76	25±6,36	24±3,4
ФБ	195±15,51	163±13,0	187±11,35	209±18,10 *(К)	231±13,9 *(К)

Примітки. * Результати відрізняються достовірно, $p < 0,001$, t-критерій Ст'юдента.

В дужках біля показників наведено групи, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах однієї строки.

Глибина виразки зменшувалася за рахунок потоншення зони гнійного ексудату та фібриноїдного некрозу (див. табл. 3.5, рис. 3.7). Під тонким шаром фібриноїдного некрозу виявлялася грануляційна тканина з типовим розташуванням її капілярів (переважно перпендикулярно до поверхні виразки), з різко набряклими ендотеліальними клітинами (рис. 3.10).

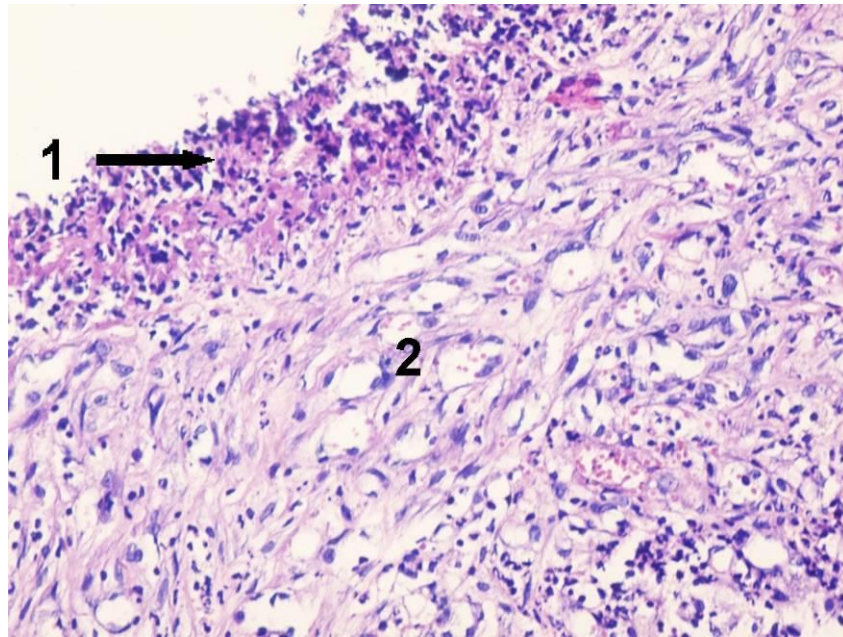


Рис. 3.10. Тонкий шар фібриноїдного некрозу та гнійного ексудату (1) з підлеглою грануляційною тканиною (2). АВ, 14 доба. Забарвлення – гематоксилін та еозин, x400.

На поздовжніх зрізах це проявлялося концентрацією клітинних елементів фібробластичного ряду, які мали орієнтовний хід перпендикулярно до дна виразки. Поперечні зрізи ядер клітин мали овальну та паличкоподібну форму. Формені елементи крові в просвітах судин не визначались, зазвичай вмістом була оптично щільна плазма крові. Клітини з овальними ядрами мали відростату форму. За морфологією їх ми віднесли до фібробластів, які мігрують із новоутвореними мікросудинами до поверхні грануляційної тканини та сприяють дозріванню аморфної речовини та колагенуутворенню.

При вивченні поперечних зрізів стінки мікросудин, розміщених по периферії до описаних вище, нами визначено, що вони були вистелені ендотеліоцитами, ядра яких вибухали в просвіти та мали добре візуалізовані ядерця. За шаром високих ендотеліальних клітин розміщувались клітини з видовженими ядрами та відростками, які охоплювали останні. За морфологічними ознаками їх можна віднести до адвентиційних клітин. В просвітах описаних судин визначались формені елементи крові.

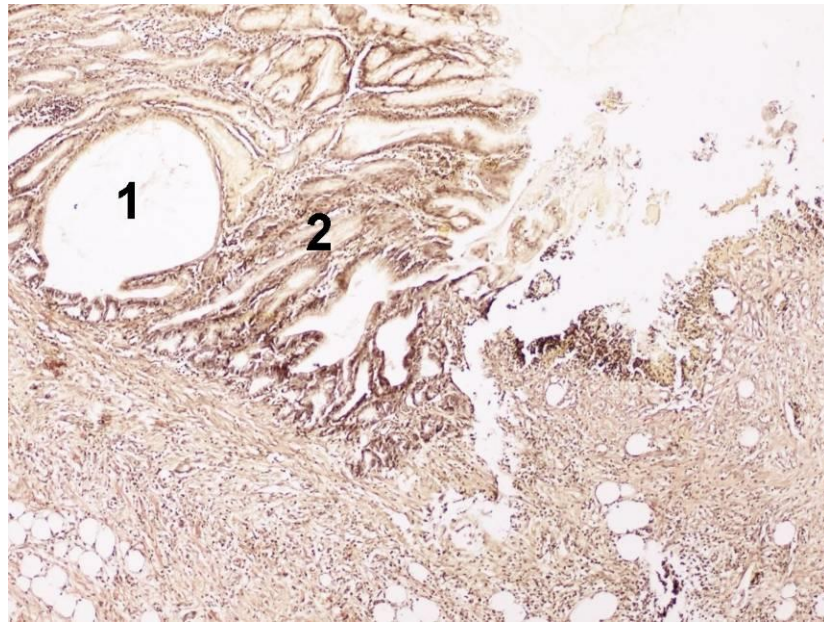


Рис. 3.11. Кістозно розширені, атрофічні пілоричні залози (1) з фовеолярною гіперплазією (2). Край виразкового дефекту. АВ, 14 доба. Забарвлення – за Ван–Гізон, x100.

Епітелій, що оточує виразкову поверхню з незначно регенеративною активністю, у, приблизно, половині зразків – із атрофією, фовеолярною гіперплазією та утворенням кіст (рис. 3.11).

Під грануляційною тканиною в межах підслизового шару визначалася сполучна тканина, здебільшого ніжно волокниста, а в окремих ділянках грубоволокниста, місцями значної товщини, що в два та більше разів перевищувала товщину м'язової оболонки. Кровоносні судини підслизового сполучнотканинного шару були нерівномірно повнокровні.

М'язова оболонка в ділянці виразки частково або повністю зруйнована, частково заміщена сполучною тканиною, в краях – склерозована. По мірі віддалення від дефекту міофіброз зменшувався аж до повного його зникнення.

Переважаання деструктивних змін із майже повністю зруйнованим шаром грануляційної тканини та поширенням некрозу на рубцеву тканину та, навіть, безпосередньо на тканину жирової клітковини сальника свідчить про гальмування репаративних процесів та прогресування АВ.

В підсерозному шарі відповідно дну завжди виявлялося розростання волокнистої сполучної тканини, головним чином досить зрілої. Також часто під серозною оболонкою можна було визначити нашарування дуже молоді сполучної тканини, що складалася в основному з пухко розташованих фіброblastів із соковитими ядрами, досить багатою тонкостінними судинами.

В групі щурів, яким було застосовано ліпоаспірат та даларгін на 14 добу експерименту у виразці, що загоюється, шар грануляційної тканини був найбільш виражений, шар некрозу практично повністю зникав.

Поряд із склеротичними змінами підслизової основи у частини щурів групи АВ та ліпоаспірату на даному терміні дослідження відмічали розростання жирової тканини, що свідчить про повне приживання аутотрансплантату у групі ліпоаспірату. У підслизовій основі сполучна тканина була більш зріла, ніж у попередні терміни, відмічалася деяка нерівномірність її диференціювання, окремі фіброblastи містили велику кількість жиру, що підтверджувалося при забарвленні препаратів Суданом III (рис. 3.12).

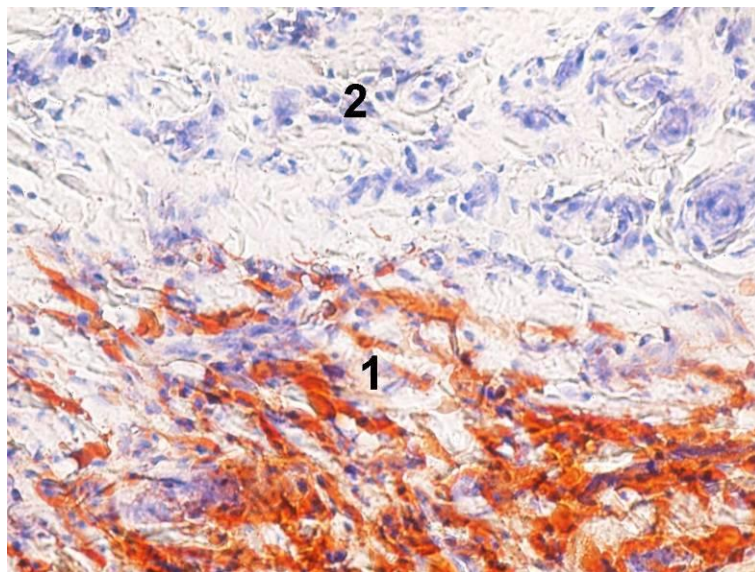


Рис. 3.12. Розростання фіброblastів із жировими включеннями (помаранчевого кольору) (1) під грануляційної тканиною (2). Застосування ліпоаспірату, 14 доба. Забарвлення – судан III, x400.

Поряд із склеротичними змінами підслизової основи у частини щурів групи АВ та ліпоаспірату на даному терміні дослідження відмічали розростання жирової тканини, що свідчить про повне приживання аутотрансплантату у групі ліпоаспірату. У підслизовій основі сполучна тканина була більш зріла, ніж у попередні терміни, відмічалася деяка нерівномірність її диференціювання, окремі фіброласти містили велику кількість жиру, що підтверджувалося при забарвленні препаратів Суданом III (рис. 3.13).

Спостерігалися ділянки, які містять досить велику кількість фіброblastів, макрофагів та лімфоцитів, інші ж ділянки знаходяться у стані фіброзу, цитоплазма окремих макрофагів як в поверхневих відділах виразки, так і в глибоких була завантажена жиром (рис. 3.13).

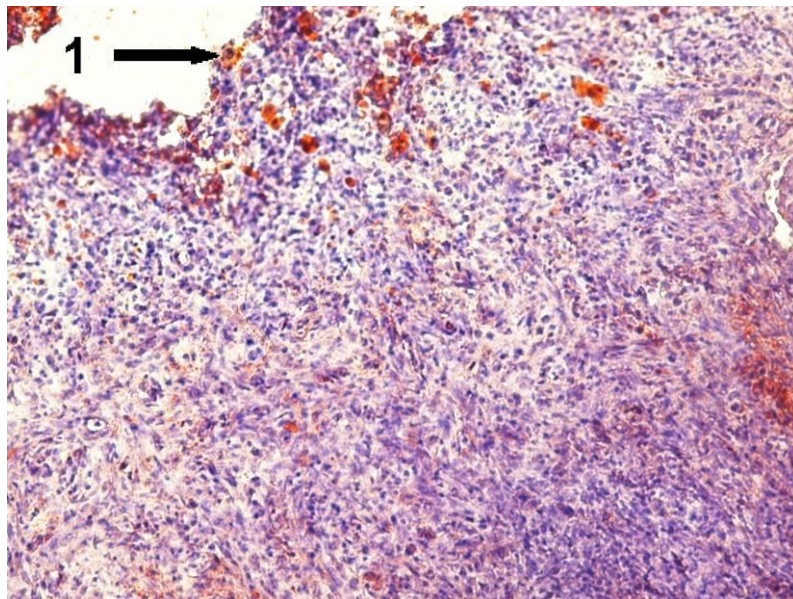


Рис. 3.13. Макрофаги, завантажені жиром (1). Застосування ліпоаспірату, 14 доба. Забарвлення – судан III, x100.

У таких зонах розміщуються колагенові пучки та нечисленні кровоносні судини. Між фіброblastами спостерігали багато аморфної або дрібнозернистої проміжної речовини, в якій містилося досить багато

лімфоцитів та макрофагів, а також невеликі багатоядерні клітини та окремі великі краплі жиру. В глибині до цього шару примикала жирова тканина, яка була раніше дном виразки, в жировій тканині багато тонкостінних судин, що утворюють петлі в її поверхневих відділах. Жирові клітини були розсунуті невеликими скупченнями однорідних або дрібнозернистих мас та фібробластами, що пронизували її з боку серозної оболонки.

За даними морфометричного дослідження середня глибина виразки на даному терміні дослідження складала $0,155 \pm 0,007$ мм в групі застосування ліпоаспірату та $0,154 \pm 0,006$ у тварин, яким вводили даларгін на фоні АВ (див. табл. 3.5, рис. 3.7). Секреторна активність шлункових епітеліоцитів була досить низькою, цитоплазма їх забарвлювалась нерівномірно та інколи не містила муцинів внаслідок виходу останніх у просвіт виразки або їх незрілості, що підтверджувалося комбінованою ШИК–реакцією з альціановим синім, при цьому у складі секрету шлункових епітеліоцитів зустрічалися домішки нейтральних муцинів (рис. 3.14).

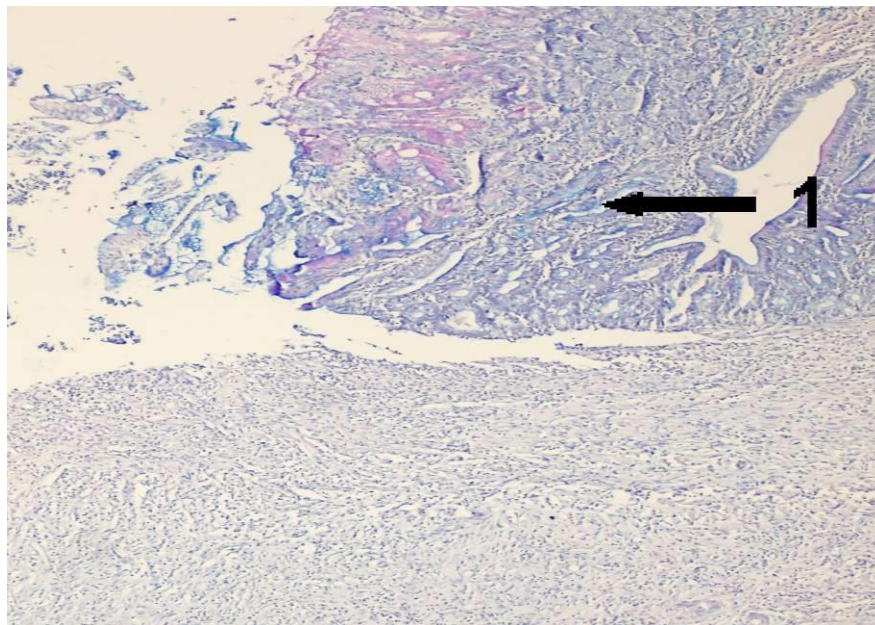


Рис. 3.14. Сіаломуцини (синього кольору) в цитоплазмі шлункових епітеліоцитів (1) з домішками нейтральних глікопротеїнів (рожевого кольору). Застосування ліпоаспірату, 14 доба. Забарвлення – ШИК–реакція з альціановим синім, $\times 200$.

В групах, яким вводили даларгін, PRP та PRP в комбінації з даларгіном епітелій ямок на 14 добу експерименту, навпаки, мав в цілому життєздатний вигляд. Цитоплазма його клітин помірно заповнена секретом, базофільна, що свідчить про велику кількість рибонуклеїдів. Зустрічалися фігури мітотичного поділу. Проліферація клітин в глибоких частинах ямок призводила до їх подовження та набуття ними звивистого або штопороподібного вигляду. У частини тварин при використанні плазми в зоні епітелізованого дефекту спостерігали вогнищеву кишкову метаплазію (рис. 3.15).

У щурів, яким вводили PRP з даларгіном на 14 добу експерименту відбувалося практично повне відновлення секреторного складу шлункових епітеліоцитів з незначною атрофією СО шлунку (рис. 3.16).

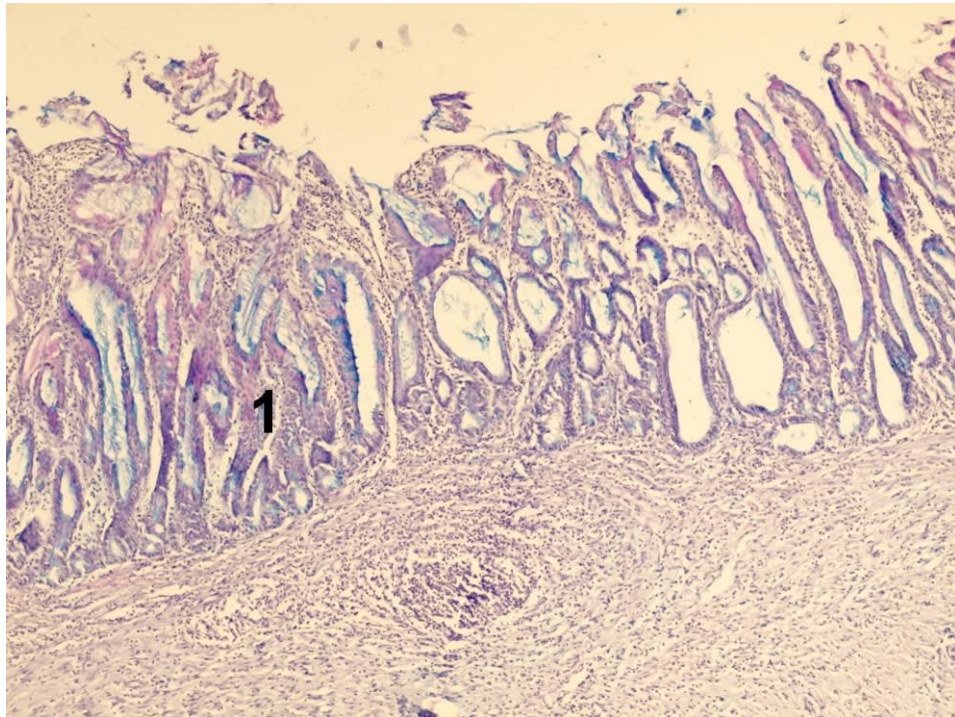


Рис. 3.15. Вогнищева повна кишкова метаплазія (1) в ділянці виразкового дефекту, що загоївся. Застосування PRP, 14 доба. ШИК–реакція з альціановим синім, x200.

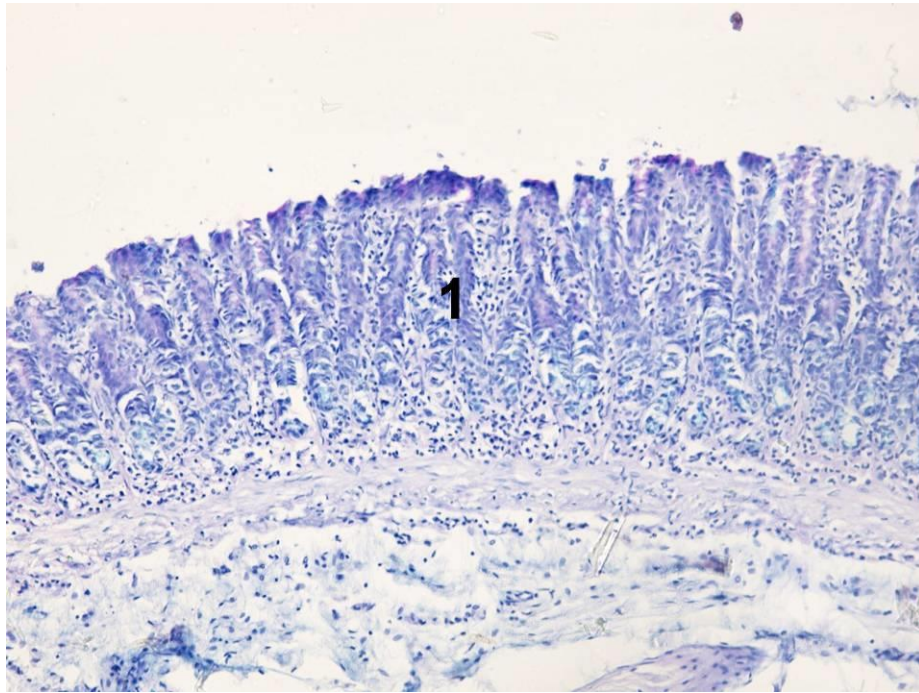


Рис. 3.16. Повна епітелізація виразкового дефекту (1) з незначною атрофією СО шлунку та відновленням секреторної активності. Застосування PRP та даларгіну. Забарвлення – ШИК–реакція з альціановим синім, x200.

В групі експериментальних тварин, яким вводили **ліпоаспірат** повну епітелізацію виразки спостерігали у 2 (28,6%) випадках, **даларгін** – 3 (42,9%), PRP – 5 (71,4%) та PRP в комбінації з даларгіном у 6 (85,7%) випадках. У групі ацетатних виразок жодна виразка не загоїлася упродовж експерименту.

На 14 добу експерименту в складі острівців грануляційної тканини при застосуванні PRP в комбінації з даларгіном виявлялося менше грубих сполучнотканинних волокон, що забарвлювалися за Ван–Гізон в червоний колір, ніж в групі з використанням тільки даларгіну або PRP. Молода сполучна тканина не мала великої кількості грануляцій, так як була відносно бідна судинами та фібробластами. Вона характеризувалася більш швидкою епітелізацією, а тому набагато швидше переходила у фіброзну тканину, проте, особливістю було відновлення також і м'язового шару за рахунок проліферації міофібробластів (рис. 3.17).

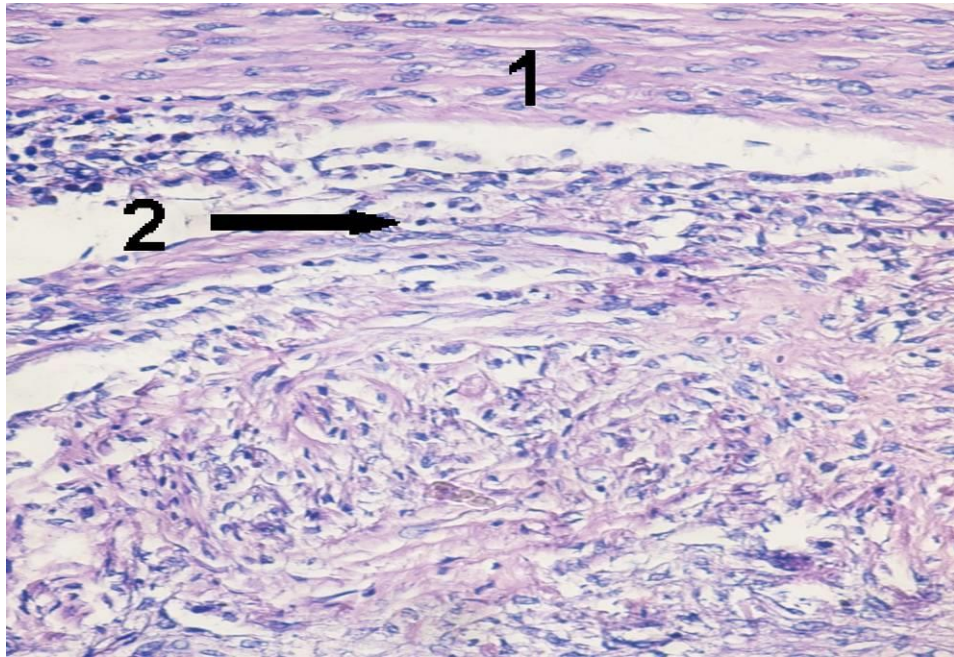


Рис. 3.17. Відновлення м'язового шару (1) в зоні виразки, що загоїлася за рахунок проліферації міофібробластів (2). Застосування PRP та даларгіну, 14 доба. Забарвлення – гематоксилін та еозин, x200.

Об'єм фіброзної тканини був менше 1/3 об'єму гладком'язової тканини. Майже у половини експериментальних тварин спостерігали потоншення СО шлунку. Для зон атрофії характерним було поєднання набряку та помірного склерозу строми з незначною лімфоплазмоцитарною інфільтрацією та невеликим числом нейтрофільних лейкоцитів. Місцями власна м'язова пластинка осередково потовщувалася за рахунок гіпертрофічних змін міоцитів.

При використанні комбінованої ШИК–реакції з альціановим синім відмічали осередкове накопичення кислих глікопротеїнів у підслизовому та м'язовому шарі у всіх досліджуваних групах.

В групі тварин, яким застосовували даларгін просвіт артерій підслизової основи був нерівномірний, стінки артеріол і капілярів гомогенно потовщені за рахунок їх плазматичного просякання та гіалінозу (рис. 3.18).

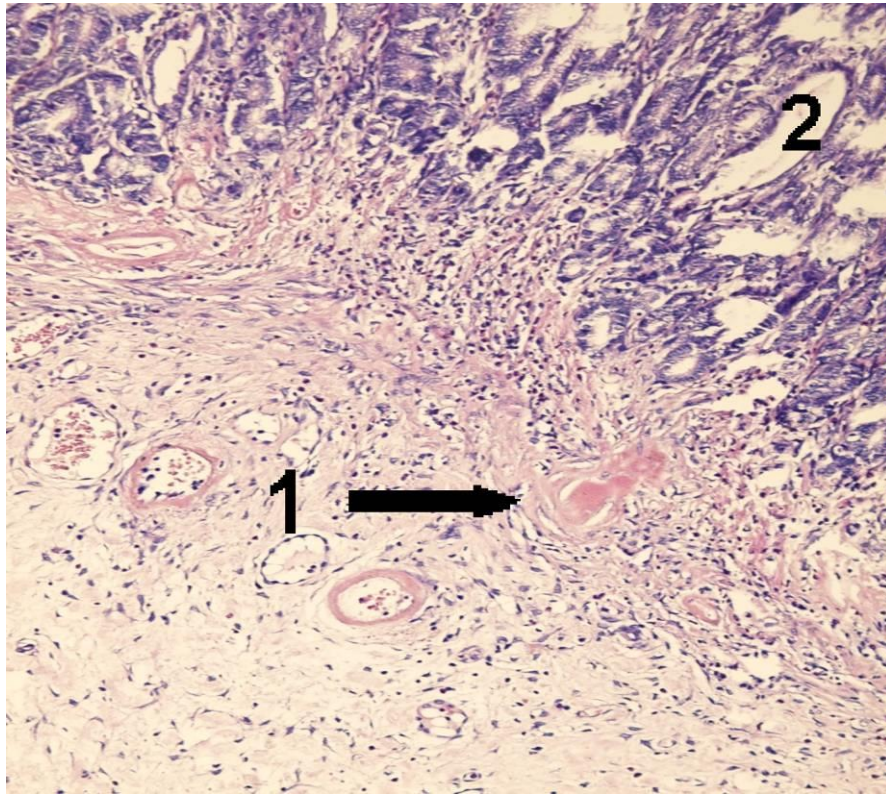


Рис. 3.18. Гіаліноз артеріол (1) підслизової основи з плазматичним просякненням. Регенеруючий епітелій (2) в зоні виразкового дефекту, що загоївся. Застосування даларгіну, 14 доба. Забарвлення – гематоксилін та еозин, х200.

Ендотелій новоутворених капілярів з підвищеною базофілією цитоплазми. Судини венозного русла розширені, в окремих спостерігалися явища стазу. Проте в комбінації з плазмою та в групі щурів, яким вводили тільки плазму гіаліноз артеріол практично не зустрічався.

Поряд з дилатацією венозного русла, навколо судин з'являлася молода сполучна тканина, що добре було помітно при забарвленні пікрофуксином за Ван–Гізон. В ній переважали ніжні сполучнотканинні волокна, які фарбувалися пікрофуксином у червоний колір (рис. 3.19).

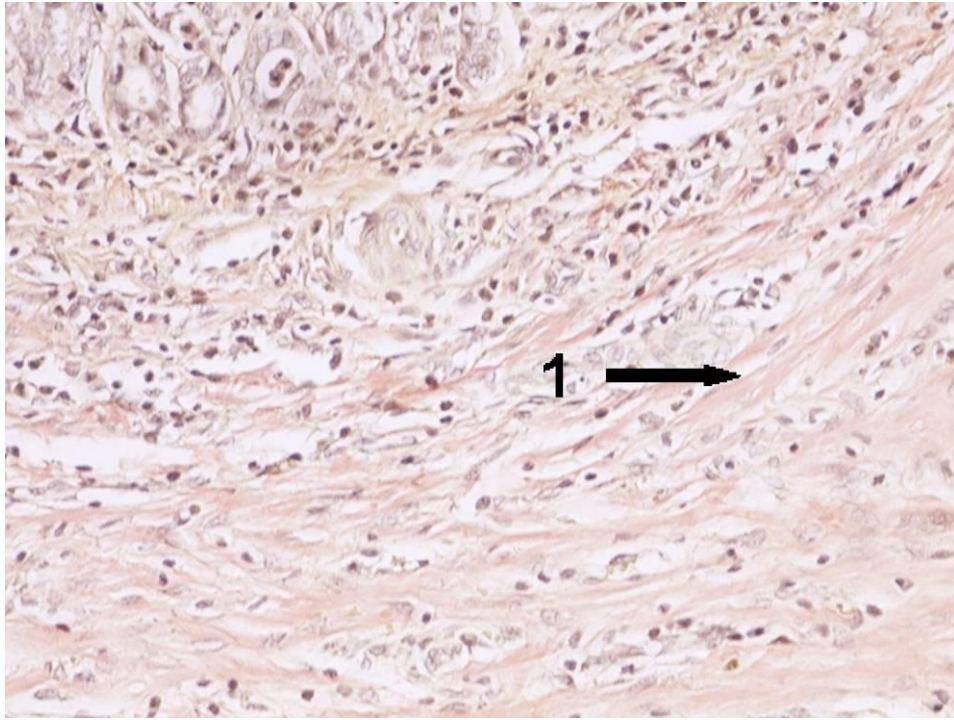


Рис. 3.19. Розростання сполучнотканинних волокон (1) в підслизовій основі виразкового дефекту СО шлунку, що загоївся. Застосування даларгіну, 14 доба. Забарвлення – за Ван–Гізон, х400.

Лімфо-лейкоцитарна інфільтрація була вогнищевою та периваскулярною. Тканинні базофіли, як правило, зустрічалися в підслизовій основі та м'язовому шару навколо судин та добре були помітні при комбінованому забарвленні міцним зеленим та основним коричневим, при цьому вони фарбувалися у різні відтінки коричневого. Кількість їх зменшувалася відповідно терміну експерименту (див. табл. 3.6, 3.7), а на 14 добу спостерігали лише поодинокі тканинні базофіли переважно у м'язовому шарі СО шлунку (рис. 3.20).

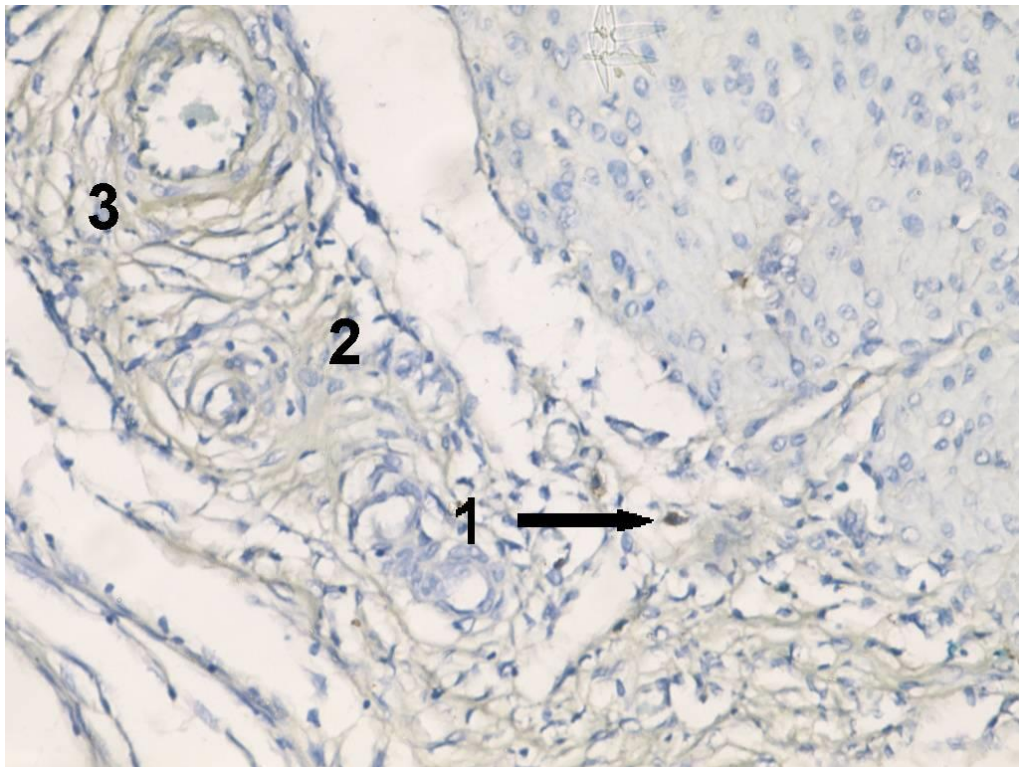


Рис. 3.20. Поодинокі тканинні базофіли (1) у м'язовому шарі, проліферація міофібробластів (2), периваскулярний набряк (3). Застосування PRP та даларгіну, 14 доба. Забарвлення – міцний зелений та основний коричневий, х400.

В підслизовій основі мікроскопічна картина характеризувалася розладами кровообігу – набряком, повнокрів'ям, лімфостазом, помірною периваскулярною переважно лімфоцитарною інфільтрацією.

В м'язовому та серозному шарах зустрічалися поодинокі периваскулярні лімфогістіоцитарні інфільтрати, спостерігалися дистрофічні зміни міоцитів та набряк строми.

Морфометричні дослідження встановили, що на 14 добу експерименту число макрофагів практично не змінюється у всіх досліджуваних групах, проте кількість фібробластів у разі використання плазми ($209 \pm 18,10$) та комбінації даларгіну з плазмою ($231 \pm 13,94$) чисельно перевищує показники, отримані в групі АВ без корекції (див. табл. 3.7). Кількісний склад плазматичних клітин та лімфоцитів мав протилежну тенденцію та характеризувався їх перевагою в групі АВ без корекції, що

може свідчить про пролонгацію хронічного запалення у даних щурів (див. табл. 3.7). Подібна динаміка змін кількості характерна і для лейкоцитів з достовірною ($p < 0,05$) їх перевагою в групі з АВ ($397 \pm 20,66$). Кількість дегранулюючих тканинних базофілів, що беруть участь у викиді медіаторів запалення, в досліджуваних ділянках експериментальних груп істотно не відрізнялася від даних в групі АВ, проте мала тенденцію до зменшення в групі плазми та комбінації останньої з даларгіном (див. табл. 3.7).

Таким чином, гістологічні дослідження свідчать про те, що використання плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном при лікуванні АВ призводить до швидкого пригнічення гнійного запалення та прискорює процеси репаративної регенерації. При застосуванні PRP та її комбінації з даларгіном швидше формується грануляційна тканина, а їх використання є більш ефективним, ніж застосування ліпоаспірату та даларгіну окремо від плазми.

Отримані нами результати дослідження відповідають даним літератури, що відзначають етапність зміни клітин-учасників запального процесу: спочатку у вогнищі запалення з'являються нейтрофільні гранулоцити, потім до них приєднуються макрофаги і, нарешті, фібробласти. Як відомо, основна функція макрофагів пов'язана з резорбцією за допомогою утворюваних ними ферментів та поглинанням чужорідних структур. Разом з тим, макрофаги переводять запальну реакцію у фібробластичну стадію, активуючи проліферацію фібробластів, що синтезують позаклітинний матрикс, зокрема колаген. Проте в групі з АВ відбувалося гальмування фібробластичної реакції за рахунок пролонгації та загострення хронічного запалення на відміну від даларгіну в комбінації з плазмою ($195 \pm 15,51$ та $231 \pm 13,94$ відповідно, $p < 0,001$), де розвиток фібробластичної стадії ранового процесу спостерігався у більшості досліджуваних тварин. Гнійний компонент запалення був практично відсутній майже у половини експериментальних тварин в групі плазми та її комбінації з даларгіном на 14

добу експерименту. Кількість лімфоцитів, плазмоцитів та тканинних базофілів зменшувалася в групах даларгіну, плазми та даларгіну в комбінації з плазмою, проте у експериментальних тварин з АВ без корекції та при застосуванні ліпоаспірату на фоні АВ запальна реакцію залишалася та затримувалася на моноцитарно-макрофагальній стадії, що не тільки збільшує небезпеку гнійних ускладнень, але і перешкоджає завершенню фіброзування а, отже, відновленню СО шлунку.

Динаміка зміни кількості клітинних елементів запальної реакції у зразках слизової оболонки стінки шлунку у всіх групах наведена на рис. 3.21, 3.22, 3.23.

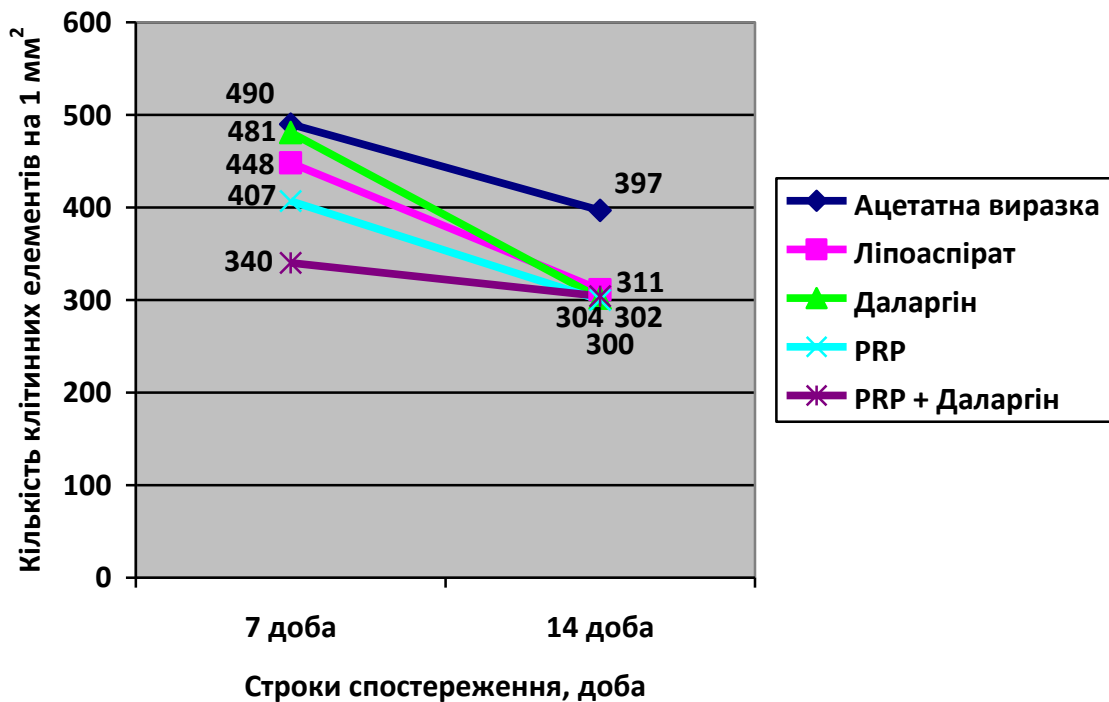


Рис. 3.21. Динаміка зміни кількості поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ) в зразках слизової оболонки шлунку.

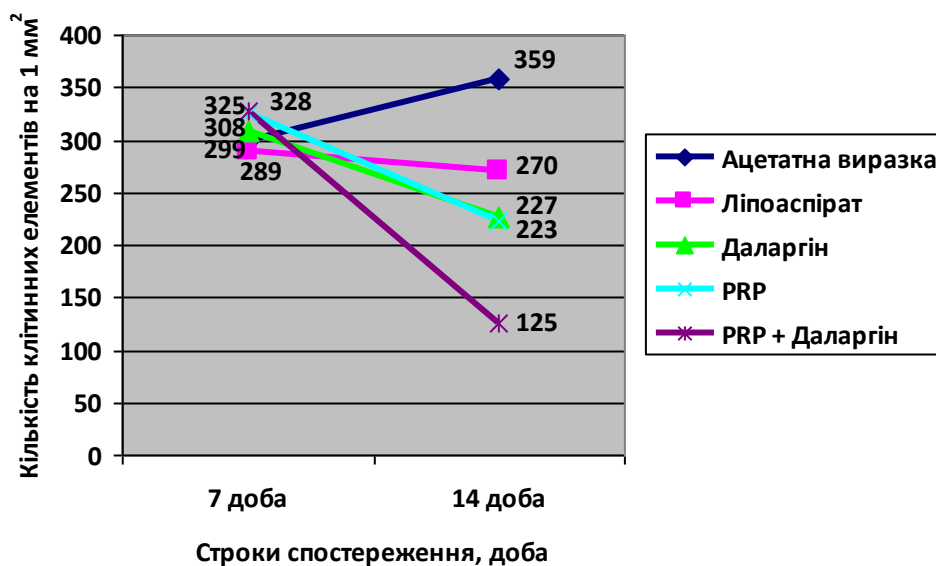


Рис. 3.22. Динаміка зміни кількості лімфоцитів (ЛЦ) в зразках слизової оболонки шлунку.

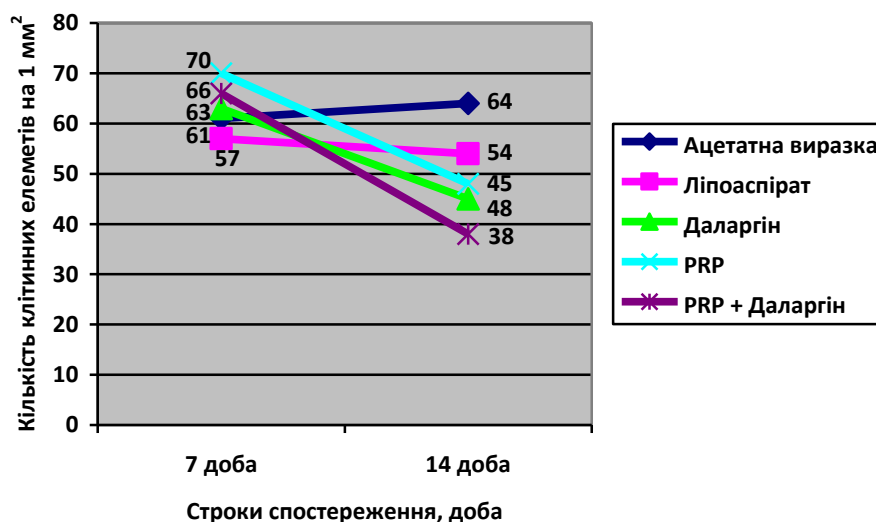


Рис. 3.23. Динаміка зміни кількості плазмоцидів (ПЦ) в зразках слизової оболонки шлунку.

Прискорення розвитку фібробластичної стадії та регенерації епітелію СО шлунку при введенні плазми збагаченої тромбоцитами та її комбінації з даларгіном має важливе значення як для більш раннього відновлення структури і функцій ушкоджених тканин, так і для попередження пізніх

гнійних ускладнень, оскільки затримка регенерації чи фіброзу пролонгує запалення або обумовлює його хронічний перебіг.

Динаміка зміни кількості клітинних елементів фібробластичного ряду у зразках слизової оболонки стінки шлунку у всіх групах наведена на рис. 3.24.

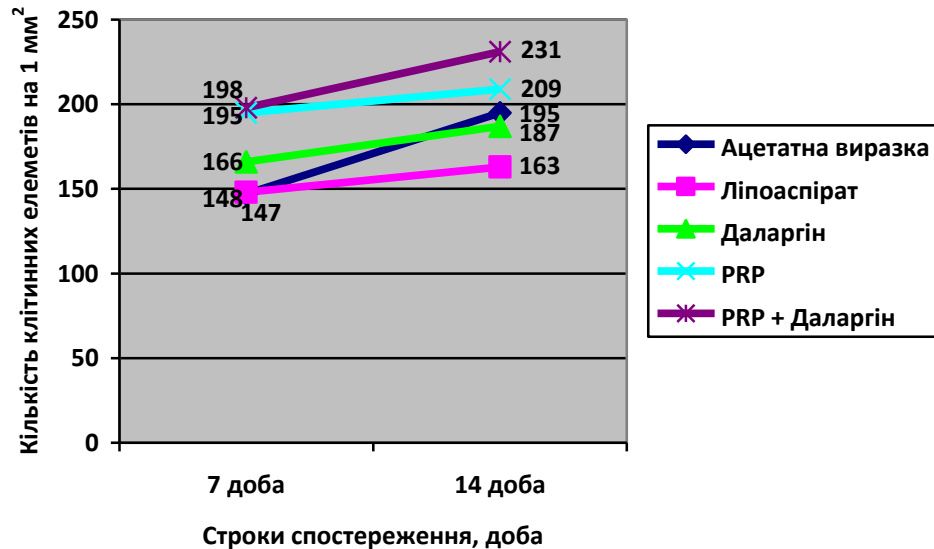


Рис. 3.24. Динаміка зміни кількості фібробластів (ФБ) в зразках слизової оболонки шлунку.

В останні роки в зв'язку із успіхами молекулярної біології істотно змінилися уявлення про механізми регуляції регенераторних процесів. Відновлення структури включає: клітинну проліферацію та диференціювання, міграцію клітин, а також реструктуризацію строми та ангиогенез. Провідними факторами у забезпеченні проліферації та диференціювання є ростові фактори та їх рецептори. За нашими даними та роботами інших авторів саме збагачена тромбоцитами плазма виявила найбільшу активність щодо стимуляції регенераторного процесу та загоєнню АВ шлунка. Це виявилось можливим за рахунок різних факторів росту та цитокінів, що секретуються із α -гранул тромбоцитів. Основні цитокіни, виявлені в тромбоцитах включають трансформуючий фактор росту β (TGF-

β), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), інсуліноподібний фактор росту (IGF-I, IGF-II), фактор росту фібробластів (FGF), епідермальний фактор росту (EGF), фактор росту ендотелію судин (VEGF), і фактор росту ендотеліальних клітин. Дані цитокіни приймають участь практично у всіх фазах репарації та відіграють важливу роль у процесах клітинної проліферації, хемотаксису, диференціації та ангиогенезу. Щодо ліпоаспірату та даларгіну, то в групі експериментальних тварин, яким вводили дані речовини відбулася активація фібрилогенезу, а в групі даларгіну поряд з фібрилогенезом ще й запальної відповіді, проте отримані дані потребують подальшої розробки та аналізу із застосуванням новітніх молекулярних технологій та біологічних маркерів.

Отже, мікроскопічне вивчення виразок шлунка, модельованих оцтовою кислотою на фоні застосуванні біологічно активних стимуляторів показало більш швидку динаміку очищення від гнійного процесу в групах застосування плазми збагаченої тромбоцитами та її комбінації з даларгіном вже на цьому добу. Крім того, саме в даних групах відбулося майже повне загоєння виразок, чого не спостерігалось в контрольній групі з АВ та групі із застосуванням ліпоаспірату. Фібробластична реакція при застосуванні плазми та плазми з даларгіном в процесі загоєння виразки досить виражена, однак, при застосуванні ліпоаспірату та окремо даларгіну відзначалася тенденція до формування більш грубої сполучної тканини.

Таким чином, плазма збагачена тромбоцитами та комбінація її з даларгіном стимулюють активність фібробластів і судиноутворення в молодій сполучній тканині, що покращує оксигенацію виразки та сприяє посиленню клітинної проліферації, диференціації та прискоренню дозрівання сполучної тканини та загоєння виразки.

Визначені особливості перебігу репаративних процесів при використанні плазми, збагаченої тромбоцитами та плазми в комбінації з даларгіном свідчать про те, що дані препарати можуть бути застосовані при

мінінвазивних втручаннях, що дозволить знизити термін лікування пацієнтів із виразками шлунку та прискорити загоєння виразкових дефектів.

Висновки:

1. При використанні оцтової кислоти у всіх піддослідних тварин виникала виразка, яка на 14 добу експерименту прогресувала та не епітелізувалася.
2. При застосуванні ліпоаспірату морфологічні зміни через 7 та 14 діб експерименту не забезпечували протинабрякового та протизапального впливу, проте глибина виразкового дефекту та ступінь запальних змін була достовірно меншою в порівнянні з ацетатною виразкою без корекції ($p < 0,001$, t-критерій Ст'юдента), а епітелізація на 14 добу експерименту визначалася у 28,6% експериментальних тварин.
3. Використання даларгіну призводило до активації запальної інфільтрації в зоні виразкового дефекту на 7 добу експерименту, проте на 14 добу показники запальної інфільтрації стабілізувалися, а повна епітелізація мала місце у 42,9% щурів.
4. Плазма збагачена тромбоцитами зменшувала запальну відповідь та стимулювала проліферацію шлункових епітеліоцитів на 7 добу із відновленням секреторної активності та епітелізацією виразок у 71,4% експериментальних тварин на 14 добу, а також активацією фібробластичної реакції упродовж всього терміну експерименту.
5. Плазма збагачена тромбоцитами у комбінації з даларгіном створює умови для нормального перебігу регенераторних процесів ацетатної виразки, забезпечуючи протинабряковий, протизапальний ефект із активацією макрофагальної реакції та міофібробластів, що сприяє безрубцювому загоєнню виразки та її епітелізації у 85,7% експериментальних тварин.

6. За даними морфологічного дослідження, відновлення слизової оболонки шлунку у експериментальних тварин із ацетатною виразкою на фоні введення плазми збагаченої тромбоцитами та її комбінації з даларгіном із зменшенням гіперпластичних та реактивно-запальних змін, стабілізацією внутрішньоклітинної секреції нейтральних муцинів слизової оболонки, незначним ступенем атрофії та фіброзу слизової оболонки шлунку після 14 доби свідчить, що застосування даних стимуляторів репарації є найбільш оптимальним.

Список публікацій за матеріалами розділу:

1. Усенко О. Ю. Оптимізація експериментальної моделі симетричних виразкових уражень шлунка / О. Ю. Усенко, Я. В. Радьога, Д. І. Гребенюк // Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту. – 2015. – № 2. – С. 314 – 318.
2. Усенко О. Ю. Морфологічне дослідження ефективності застосування клітинних технологій у корекції експериментальної виразки шлунка / О. Ю. Усенко, Я. В. Радьога, Д. І. Гребенюк // Вісн. морфології. – 2015. – № 2. – С. 367 – 371.
3. Поєднання клітинних технологій та мініінвазивної хірургії в лікуванні хронічної виразки шлунка / О. Ю. Усенко, Я. В. Радьога, Д. І. Гребенюк, О. К. Стукан // Клін. хірургія. – 2015. – № 10. – С. 23 – 26.
4. Пат. 97617 Україна, МПК А61М 1/00 А61М 31/00 (2015.01) Пристрій для керування шприцем / В. В. Петрушенко, Д. І. Гребенюк, Я. В. Радьога, І. В. Таран, К. М. Паньків, О. О. Корецький (Україна). – Заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u 2014 10751; заявл. 02.10.14; опубл. 25.03.15. Бюл. № 6.
5. Гребенюк Д. І. Експериментальне вивчення можливості застосування аутологічного очищеного ліпоаспірату для ендоскопічного ін'єкційного гемостазу / Д. І. Гребенюк, Я. В. Радьога // Матеріали VI міжнар. наук.–практ. конф. молодих вчених. – Вінниця, 2015. – С. 89.

РОЗДІЛ 4
ХРОНІЧНІ ВИРАЗКИ ШЛУНКУ, ЩО ПОГАНО РЕГЕНЕРУЮТЬ:
ДИНАМІКА РЕГЕНЕРАЦІЇ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКУ
ТА ЯКІСТЬ ЖИТТЯ ПАЦІЄНТІВ
В УМОВАХ СТИМУЛЯЦІЇ РЕПАРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ
(КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

4.1. Особливості регенерації хронічних виразкових дефектів шлунку в умовах локального застосування плазми збагаченої тромбоцитами

Як було продемонстровано в експериментальній частині нашого дослідження, найкращий клінічний та морфологічний ефект ми спостерігали при застосування плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном. Але необхідно зауважити, що достовірних відмінностей між застосуванням даних двох методик доведено не було. Крім того, використання будь-якого фармакологічного препарату завжди супроводжується ризиком розвитку побічних реакцій або індивідуальної непереносимості. Також слід зазначити, що використання додаткового фармакологічного засобу (даларгіну) в схемі лікування, тягне за собою додаткове фінансове навантаження на пацієнта.

Враховуючи всі ці фактори, нами було прийнято рішення, в клінічній частині дослідження застосовувати лише ін'єкційне введення плазми збагаченої тромбоцитами.

Як зазначалося вище, в групу порівняння ввійшли 27 (54,0%) пацієнтів, в дослідну групу – 23 (46,0%) пацієнтів.

Розподіл пацієнтів у групах залежно від локалізації виразкових дефектів наведено в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Розподіл пацієнтів у групах залежно від локалізації виразкових дефектів

Локалізація	Група порівняння	Дослідна група	Всього
Тіло шлунку	14 (51,8%)	13 (56,5%)	27 (54,0%)
Кут шлунку	4 (14,8%)	3 (13,0%)	7 (14,0%)
Антральний відділ шлунку	9 (33,3%)	7 (30,4%)	16 (32,0%)
Всього	27 (54,0%)	23 (46,0%)	50

Дані таблиці 4.1 свідчать, що в обох групах локалізація виразкових дефектів в тілі шлунку була найчастішою. Другою по частоті була локалізація в антральному відділі, а на третьому місці – локалізація в ділянці кута шлунку.

Детальний розподіл пацієнтів у групах залежно від локалізації виразкових дефектів із зазначенням топографічних особливостей наведено в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

**Детальний розподіл пацієнтів у групах залежно від локалізації
виразкових дефектів**

Локалізація	Група порівняння	Дослідна група	Всього
Тіло шлунку (n=27 (54,0%))			
Передня стінка	1 (3,7%)	2 (8,7%)	3 (6,0%)
Задня стінка	6 (22,0%)	6 (26,1%)	12 (24,0%)
Мала кривизна	5 (18,5%)	3 (13,0%)	8 (16,0%)
Велика кривизна	2 (7,4%)	2 (8,7%)	4 (8,0%)
Кут шлунку (n=7 (14,0%))			
Задня стінка	2 (7,4%)	1 (4,3%)	3 (6,0%)
Мала кривизна	2 (7,4%)	2 (8,7%)	4 (8,0%)
Антральний відділ шлунку (n=16 (32,0%))			
Передня стінка	1 (3,7%)	2 (8,7%)	3 (6,0%)
Задня стінка	4 (14,8%)	2 (8,7%)	6 (12,0%)
Мала кривизна	3 (11,1%)	1 (4,3%)	4 (8,0%)
Велика кривизна	1 (3,7%)	2 (8,7%)	3 (6,0%)
Всього	27 (54,0%)	23 (46,0%)	50

Розподіл пацієнтів у групах залежно від розмірів виразкових дефектів наведено в таблиці 4.3.

Таблиця 4.3

Розподіл пацієнтів у групах залежно від розмірів виразкових дефектів

Розміри	Група порівняння	Дослідна група	Всього
Середні (1–2 см)	17 (63,0%)	14 (60,9%)	31 (62,0%)
Великі (2–3 см)	10 (37,0%)	9 (39,1%)	19 (38,0%)
Всього	27 (54,0%)	23 (46,0%)	50

Як видно із таблиць 4.1, 4.2, 4.3 розподіл пацієнтів у групах як за локалізацією, так і за розмірами суттєво не відрізнявся від аналогічних показників у всьому контингенті хворих, що було підтверджено статистично. Тобто, розподіл у групах був рівномірним.

Середні показники кількості тромбоцитів в зразках плазми збагаченої тромбоцитами становили $(500,9 \pm 52,9) \cdot 10^9$ /л, що практично в два рази перевищувало середні показники кількості тромбоцитів у дорослої людини. Отже, кількість тромбоцитів в 1 мл плазми збагаченої тромбоцитами становила $(500,9 \pm 52,9) \cdot 10^6$ /мл, а кожному пацієнту вводили $(2504,4 \pm 264,9) \cdot 10^6$ тромбоцитів.

При ініціальному ендоскопічному дослідженні всім пацієнтам було виконано поліпозиційну експрес-біопсію для виявлення такого можливого ускладнення хронічної виразки, як малігнізація (наявність атипових клітин, дисплазії, метаплазії). У жодного із пацієнтів нашого дослідження малігнізація виявлена не була.

Як при ініціальному ендоскопічному дослідженні, так і при всіх наступних ми вираховували та фіксували показники площі виразкових дефектів для оцінки процесу загоєння в динаміці.

Показники площі виразкових дефектів шлунку у пацієнтів нашого дослідження на 1, 7 та 14 добу наведені в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

Показники площі виразкових дефектів шлунку на різних термінах дослідження

Терміни дослідження		Площа виразкових дефектів у групах, мм ²		Достовірність відмінностей на кожному терміні
		Група порівняння (n=27)	Дослідна група (n=23)	
1 доба	1	288,7±121,7*(2), *(3)	292,5±129,3*(2), *(3)	p>0,05
7 доба	2	191,5±113,4*(1)	147,9±99,9*(1), *(3)	p>0,05
14 доба	3	134,3±103,4*(1)	37,0±52,9*(1), *(2)	p<0,01

Примітка. * Результати відрізняються достовірно, p<0,01, t-критерій Ст'юдента.

В дужках біля показників площі виразкових дефектів наведено номери строк, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах одного стовпчика (однієї групи).

Як видно із таблиці 4.4, як у дослідній групі, так і в групі порівняння прослідковується тенденція до зменшення числових показників площі виразкових дефектів з часом.

Так, у групі порівняння на 7 добу відмічалось достовірне (p<0,01, t-критерій Ст'юдента) зменшення площі виразок із 288,7±121,7 мм² до 191,5±113,4 мм², порівняно із 1 добою. На 14 добу цей показник складав 134,3±103,4 мм² і також достовірно відрізнявся від показників, отриманих під час ініціального ендоскопічного дослідження (p<0,01, t-критерій Ст'юдента). В той же час, хоча чисельно площа виразкових дефектів на 14 добу була меншою за аналогічний показник на 7 добу, проте дана різниця не була статистично значимою (p>0,05, t-критерій Ст'юдента).

Слід зазначити, що у одного пацієнта на 7 добу мало місце незначне збільшення виразки, проте на 14 добу лікування, значення цього показника зменшилося нижче ініціального.

Схожа тенденція прослідковувалася і в дослідній групі, де локальні репаративні процеси підсилювалися введенням плазми збагаченої тромбоцитами. Так, площа виразок на 14 добу ($37,0 \pm 52,9$ мм²) була значно меншою від площі на 1 ($292,5 \pm 129,3$ мм²) та 7 ($147,9 \pm 99,9$ мм²) добу. Проте, на відміну від групи порівняння достовірність була доведена для кожної пари показників. Тобто, прогресивне зменшення площі виразкових дефектів протягом всього терміну спостереження мало достовірний характер ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Крім оцінки динаміки репаративного процесу всередині кожної групи, також ми порівнювали розміри виразкових дефектів в обох групах на кожному терміні дослідження. Так, якщо 1 добу дослідження жодних відмінностей ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) між показниками площі виразок в обох групах не було, то на 7 добу нами було помічено більш швидке, хоча й недостовірне ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) зменшення площі в дослідній групі. На 14 добу відмінності були ще більш вираженими, і на цей раз були достовірними ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Це свідчить про позитивний вплив плазми збагаченої тромбоцитами на швидкість загоєння виразкових дефектів стінки шлунку.

Графічне зображення описаних залежностей наведено на рисунку 4.1.

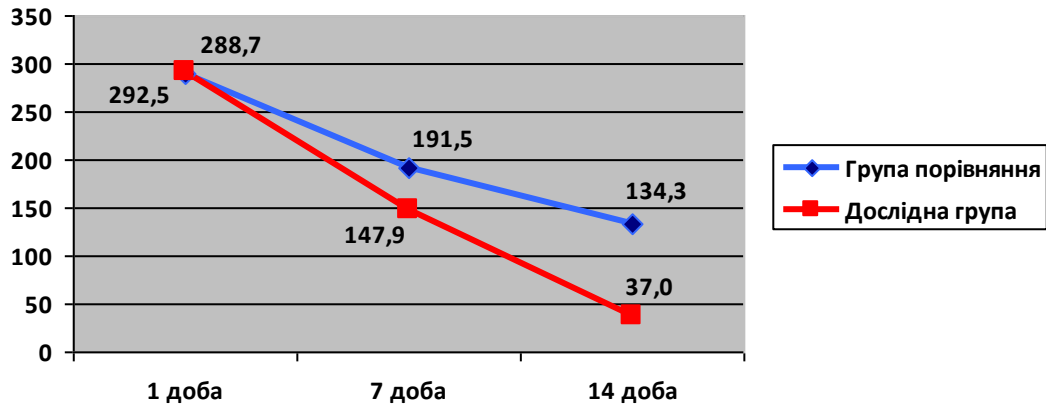


Рис. 4.1. Динаміка загоєння виразкових дефектів в обстежуваному контингенті.

Повне загоєння виразок шлунку на стадії “червоного рубця” спостерігалось при ендоскопічному дослідженні лише на 14 добу. Щодо кількості виразкових дефектів, що повністю загоїлися до 14 доби, то дані показники наведені в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Кількість випадків повного загоєння виразкових дефектів на 14 добу

Дефекти \ Групи	Група порівняння	Дослідна група	Всього
Загоєні	5 (18,5%)	14 (60,9%)	19 (38%)
Не загоєні	22 (81,5%)	9 (39,1%)	31 (62%)
Всього	27	23	50

Із таблиці 4.5 видно, що всього у 19 пацієнтів нашого дослідження на 14 добу відбулася повна регенерація слизової оболонки шлунку. Щодо розподілу по групах, то в групі порівняння із 27 пацієнтів повне загоєння мало місце лише у 5 (18,5%) випадках. Натомість, в дослідній групі (23 пацієнти) цей показник складав 14 (60,9%) пацієнтів. При статистичній обробці отриманих даних виявилось, що дана різниця є достовірною ($p < 0,01$,

χ^2 з поправкою Йетса на безперервність). Тобто, у дослідній групі кількість випадків повного відновлення слизової оболонки шлунку була достовірно вищою за аналогічний показник у групі порівняння.

Слід також зазначити, що абсолютно всі випадки повного загоєння виразкових дефектів припадали на частину пацієнтів із виразками середніх розмірів (1–2 см). Натомість, ні в групі порівняння, ні в дослідній групі, жодна виразка великих розмірів (2–3 см) не загоїлася повністю.

В зв'язку з цим нами було вирішено провести аналіз динаміки загоєння виразкових дефектів із урахуванням їх розмірів.

Показники площі виразкових дефектів середнього розміру у пацієнтів нашого дослідження в залежності від термінів дослідження наведені в таблиці 4.6.

Таблиця 4.6

Показники площі виразкових дефектів середніх розмірів на різних термінах дослідження

Терміни дослідження		Площа виразкових дефектів у групах, мм ²		Достовірність відмінностей на кожному терміні
		Група порівняння (n=17)	Дослідна група (n=14)	
1 доба	1	212,4±45,5 ^{*(2), *(3)}	206,6±43,5 ^{*(2), *(3)}	p>0,05
7 доба	2	143,2±72,5 ^{*(1), *(3)}	91,3±25,3 ^{*(1), *(3)}	p<0,05
14 доба	3	92,1±87,2 ^{*(1), *(2)}	0,0±0,0 ^{*(1), *(2)}	p<0,01

Примітка. * Результати відрізняються достовірно, p<0,01, t-критерій Ст'юдента.

В дужках біля показників площі виразкових дефектів наведено номери строк, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах одного стовпчика (однієї групи).

Як видно із таблиці 4.6, у обох групах прослідковується чітка тенденція до зменшення числових показників площі виразкових дефектів з часом, при чому ця тенденція є статистично достовірною.

На відміну від описаного раніше аналізу загоєння виразкових дефектів без розподілу їх за розмірами, показники площі виразок середніх розмірів у групі порівняння на 7 та 14 добу не лише достовірно відрізняються від аналогічного показника при ініціальному дослідженні, а й достовірно відрізняються між собою.

Щодо дослідної групи, то тут слід зазначити, що прогресування репаративного процесу завершується 100% епітелізацією всіх виразкових дефектів.

Графічне зображення описаних залежностей щодо репарації виразкових дефектів середніх розмірів наведено на рисунку 4.2.

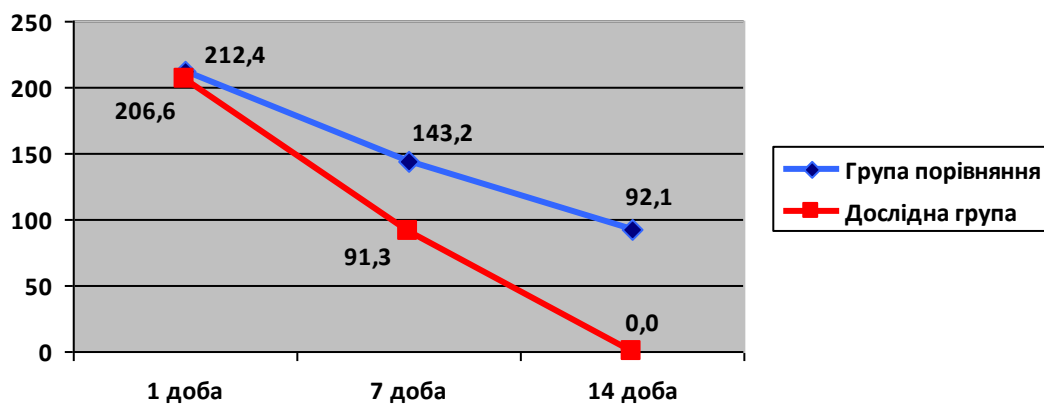


Рис. 4.2. Динаміка загоєння виразкових дефектів середніх розмірів.

При статистичному порівнянні розмірів виразкових дефектів на 1, 7 та 14 добу між групами виявлено наступне. На 1 добу розміри виразкових дефектів достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) та склали для групи порівняння – $212,4 \pm 45,5$ мм², для дослідної групи – $206,6 \pm 43,5$ мм². Проте, починаючи вже з 7 доби різниця набуває достовірності ($p < 0,05$, t-критерій Ст'юдента). Тенденція до прогресивного

зменшення площі виразкових дефектів прослідковується також і при аналізі даних показників на 14 добу, проте з більшою достовірністю ($p < 0,01$, t -критерій Ст'юдента).

Аналіз випадків повного загоєння виразок шлунку середніх розмірів наведений в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7

Кількість випадків повного загоєння виразкових дефектів середніх розмірів на 14 добу

Дефекти \ Групи	Група порівняння	Дослідна група	Всього
Загоєні	5 (29,4%)	14 (100%)	19 (61,3%)
Не загоєні	12 (70,6%)	0 (0%)	12 (38,7%)
Всього	17	14	31

Із таблиці 4.7 видно, що із 31 пацієнта з виразками середніх розмірів на 14 добу повної регенерації слизової оболонки шлунку вдалося досягти у 19 (61,3%) випадках, причому більша частина (14 пацієнтів) припадала на дослідну групу, де процеси репарації стимулювалися локальним введенням плазми збагаченої тромбоцитами. Також, слід зазначити, що ці 14 пацієнтів склали 100% дослідної групи. Натомість, у групі порівняння, пацієнти якої лікувалися за стандартними протоколами, із 17 пацієнтів повне загоєння виразки мало місце лише у 5 (29,4%) випадках.

При статистичній обробці отриманих даних виявилось, що дана різниця є достовірною ($p < 0,001$, точний двосторонній критерій Фішера). Тобто, загоєння виразкових дефектів середніх розмірів достовірно значно краще відбувалося при використанні біологічного стимулятора репарації – PRP.

Щодо спостереження за загоєнням виразкових дефектів великих розмірів, то його було продовжено до 21 доби.

Показники площі виразкових дефектів великих розмірів у пацієнтів нашого дослідження в залежності від термінів дослідження наведені в таблиці 4.8.

Таблиця 4.8

Показники площі виразкових дефектів великих розмірів на різних термінах дослідження

Терміни дослідження		Площа виразкових дефектів у групах, мм ²		Достовірність відмінностей на кожному терміні
		Група порівняння (n=10)	Дослідна група (n=9)	
1 доба	1	418,5±96,7*(2),*(3),*(4)	421,1±99,4*(2),*(3),*(4)	p>0,05
7 доба	2	273,6±126,1*(1),***(4)	236,1±109,9*(1),*(3),*(4)	p>0,05
14 доба	3	206,0±109,9*(1)	94,6±40,0*(1),*(2)	p<0,01
21 доба	4	162,2±71,4*(1),***(2)	72,1±23,6*(1),*(2)	p<0,01

Примітка.

* Результати відрізняються достовірно, p<0,01, t-критерій Ст'юдента.

** Результати відрізняються достовірно, p<0,05, t-критерій Ст'юдента.

В дужках біля показників площі виразкових дефектів наведено номери строк, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах одного стовпчика (однієї групи).

Дані таблиці 4.8 в загальних рисах демонструють залежності аналогічні до попередніх. Тобто, як у групі порівняння, так і в дослідній групі спостерігається зменшення площі виразкових дефектів починаючи з 7 доби.

У групі порівняння на 7 добу площа виразок становила 273,6±126,1 мм², тобто має місце швидке зменшення площі виразкових дефектів,

порівняно із 1 добою ($418,5 \pm 96,7 \text{ мм}^2$). Відмінності між показниками площі на 1 та 7 добу є достовірними ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента). Проте, на 14 добу відмічалось певне гальмування репарації, яке спостерігалось і на 21 добу. Хоча ми спостерігали постійне зменшення площі виразок, проте достовірних відмінностей між 7 та 14, а також 14 та 21 добою не було ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

У дослідній групі на 7 та 14 добу спостерігалось достовірне зменшення площі виразкових дефектів ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента). На 21 добу показники площі достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) відрізнялися від аналогічних показників на 1 та 7 добу, проте різниця із 14 добою була недостовірною ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

Графічне зображення описаних залежностей щодо репарації виразкових дефектів великих розмірів наведено на рисунку 4.3.

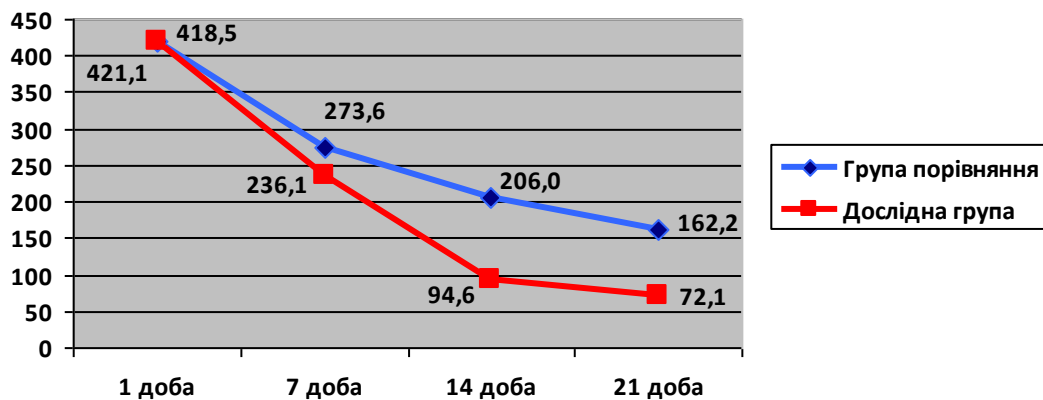


Рис. 4.3. Динаміка загоєння виразкових дефектів великих розмірів.

При порівнянні динаміки репаративних процесів на кожному терміні було отримано наступні дані. На 1 добу дослідження жодні відмінності ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) між показниками площі виразок в обох групах нами не спостерігалися. На 7 добу було помічено незначне, проте, недостовірне ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) зменшення площі в дослідній групі. На 14 добу відмінності були ще більш вираженими, причому різниця

була статистично підтверджена ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента). Аналогічно до 14 доби, на 21 добу мало місце достовірне переважання показників дослідної групи над показниками групи порівняння ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Описана динаміка щодо загоєння виразок великих розмірів дозволяє зробити наступні висновки.

Так, незважаючи на позитивну початкову динаміку, мало місце згасання процесів репарації в групі порівняння починаючи з 14 доби. Принаймні частково, це пояснюється виснаженням локальних репаративних можливостей стінки шлунку.

Натомість в дослідній групі спостерігалось стрімке прогресування відновлення цілісності слизової оболонки шлунку починаючи з 7 доби, і, яке продовжувалося до 14 доби, із наступним гальмуванням репаративних процесів. Такий характер динаміки загоєння пояснюється тим, що згідно літературних даних, середня тривалість життя тромбоцитів складає 7 діб, а максимальна – 10–12 діб. Виходячи з цього, можна припустити, що до 7 доби має місце максимальне локальне вивільнення факторів росту та диференціації із тромбоцитів ін'єктованих в підслизовий шар стінки шлунку. Крім того, дані літератури також свідчать, що максимальний ефект, зумовлений плазмою збагачено тромбоцитами проявляється протягом перших двох тижнів після аутотрансплантації. Цей факт пояснює згасання репаративних процесів ближче до 21 доби.

Так як в навіть на 21 добу у пацієнтів із виразковими дефектами великих розмірів повного загоєння нами не було досягнуто в жодному випадку, доцільною може бути повторна локальна стимуляція процесів репарації.

Висновки:

1. При проведенні стандартної консервативної терапії хронічних виразок, що погано регенерують та мають великі розміри після 14-ї доби

відзначали часткове пригнічення репаративних процесів, що проявлялося недостовірним зменшенням площі виразкових дефектів через 14-ї та 21 добу з $(94,6 \pm 40,0)$ до $(72,1 \pm 23,6)$ мм², зумовленим виснаженням локальних репаративних можливостей стінки шлунка та відсутністю повного загоєння у 100% спостережень, що є прогностично поганою ознакою для успішного подальшого консервативного лікування.

2. Однократна локальна стимуляція реparatorних процесів стінки шлунку шляхом ендоскопічної ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами дозволяє достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) прискорити процес епітелізації виразкових дефектів протягом 14 діб із наступним гальмуванням реparatorних процесів.
3. Однократна локальна стимуляція реparatorних процесів стінки шлунку шляхом ендоскопічної ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами дозволяє достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) зменшити площу виразкових дефектів великих розмірів та досягти 100% загоєння виразкових дефектів середніх розмірів.

4.2. Морфогенез хронічних виразок шлунку в умовах стимуляції репаративних процесів плазмою збагаченою тромбоцитами

В процесі регенерації виразкових дефектів слизової оболонки шлунку важливу роль відіграє не лише швидкість загоєння, а й ступінь відновлення структурних елементів стінки шлунку та їх функціональних можливостей, що в кінцевому випадку впливає на функціонування органа в цілому.

Саме тому наступним етапом нашого дослідження був ретельний аналіз морфологічних змін у слизовій оболонці шлунку пацієнтів в умовах стимуляції репаративних процесів.

Морфологічне дослідження біоптатів слизової оболонки виразкових дефектів шлунку взятих під час ініціального ендоскопічного дослідження вказував на наявність хронічного запального процесу. Так, в прилеглих до виразки субепітеліальних відділах слизової оболонки виявлено інфільтрацію сегментоядерними лейкоцитами та лімфоцитами, місцями з фовеолярною гіперплазією СО, набряком власної пластинки та дисциркуляторними змінами у просвітах судин (рис. 4.4).

Дно та краї виразки представлені фібринозно-гнійним або гнійним ексудатом. На дні виразки виявлялися безструктурні маси, злуцнені епітеліоцити з домішками лімфоцитодоподібних клітин. Під некротизованими ділянками спостерігалися, серед грануляційної тканини, дрібні переривчасті зони фібриноїдного некрозу. Дисциркуляторні порушення були представлені у вигляді розширення судин мікроциркуляторного русла власної пластинки СО з еритроцитарними стазами у просвітах. В окремих судинах як формені елементи, так і плазма були відсутні. Стінки як венозних, так і артеріальних судин власної пластинки СО з ознаками набряку, ендотелій місцями вакуолізований та десквамований. В дні виразки в ділянках прилеглих до шару грануляційної тканини судинні стінки були розрихленими, розволокненими, місцями

просочені лейкоцитарним ексудатом з лейкостазами у просвітах. Зустрічалися скупчення гемосідерофагів, множинні дрібні крововиливи, здебільшого діapedезного типу.

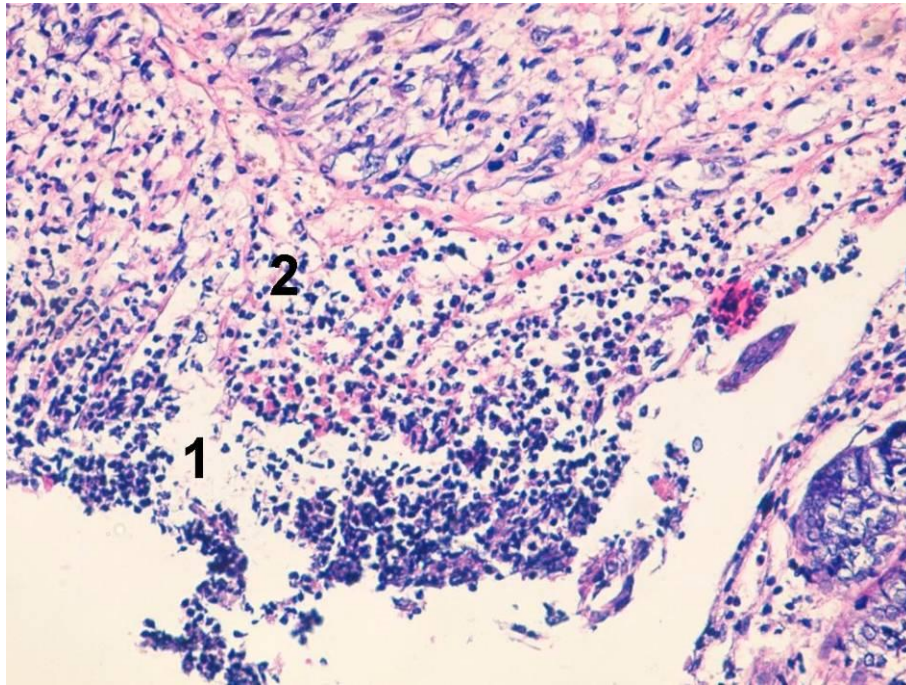


Рис. 4.4. Край хронічної виразки шлунку з широкою зоною фібриноїдного некрозу (1) та лейкоцитарного ексудату (2). Хронічна виразка шлунку, 1 доба. Зabarвлення – гематоксилін та еозин, х400.

Грануляційна тканина у дні виразкових дефектів складалася з вузького поверхневого шару, що містить судинні петлі та тісно розташовані запальні елементи, переважно лейкоцити (рис. 4.5), густої сітки фібрину та ряду горизонтальних фібробластів, що лежать на поверхні судинних петель.

Серед змін судин грануляційної тканини слід відмітити набухання ендотелію, просочування стінок судин фібринозними масами та лейкоцитами, випадіння в просвіті судин згортків фібрину, закриття просвіту. Контури судин при цьому іноді були нечіткі, розпливчасті, стінка їх дифузно фарбувалася, була некротизованою. Описані зміни спостерігалися і в капілярних петлях поверхневого шару у всіх зразках, хоча і не у всіх судинах.

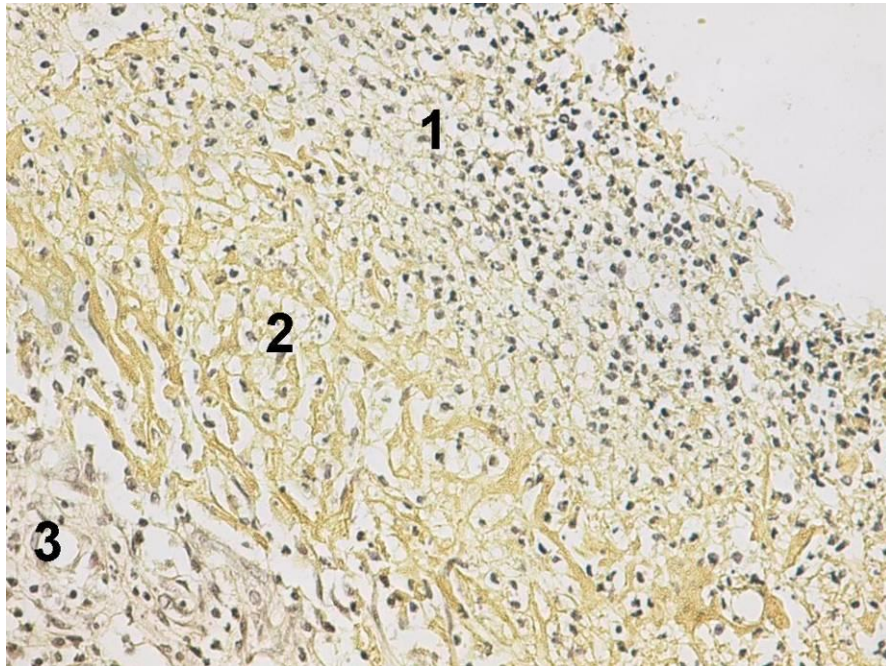


Рис. 4.5. Зона фібриноїдного некрозу (1) з підлеглим шаром грануляційної тканини (2) та горизонтально розташованими фібробластами (3). Хронічна виразка шлунку, 1 доба. Зabarвлення – за Ван-Гізон, x400.

Щодо щільності розташування клітинних елементів, то показники наведені в таблиці 4.9 вказують на наявність хронічного запального процесу в ділянці виразкового дефекту.

Таблиця 4.9

Щільність розташування клітинних елементів власної пластинки СО шлунку в зоні виразкового дефекту на 1 добу дослідження (із розрахунку на 1 мм²)

Клітинні елементи	Групи пацієнтів		Достовірність відмінностей (t-критерій Ст'юдента)
	Група порівняння	Дослідна група	
ПЯЛ	470±10,5	472±9,8	p>0,05
МФ	65,2±5,3	64,9±5,6	p>0,05
ЛЦ	285±12,9	288±14,2	p>0,05
ПЦ	56±5,3	58±5,1	p>0,05
ФБ	132±11,1	128±12,2	p>0,05

Як видно із таблиці 4.9, між групою порівняння та дослідною групою жодних достовірних відмінностей у кількісних характеристиках клітинних елементів власної пластинки слизової оболонки на початку дослідження нами виявлено не було ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

При аналізі біоптатів, отриманих на **7 добу** дослідження виявили наступні зміни.

В обох групах грануляційна тканина була представлена розширеними кровоносними капілярами та клітинними елементами. Мало місце незначне потовщення стінок кровоносних капілярів, за рахунок чого просвіти їх були дещо звужені. У дослідній групі виявлялися певні відмінності від описаної будови, які полягали у тому, що в шарі вертикальних судин були виявлені окремі ділянки, що містили мало аморфної проміжної речовини. В таких ділянках кровоносні судини з розташованими біля них фібробластами та клітинами макрофагального ряду розташовувалися більш тісно, ніж в ділянках, що містили багато аморфної речовини. Відповідно ущільненим ділянкам шар грануляційної тканини більш тонкий, внаслідок чого шар горизонтальних фібробластів лежить ближче до поверхні виразки, ніж на ділянках, багатих аморфною проміжною речовиною. Поверхневий вузький шар великих фібробластів, що розташовується уздовж судинних петель на поверхні грануляцій, в одних випадках був виражений різкіше, в інших – слабше, в окремих випадках фібробласти втрачали свої великі розміри та більше нагадували зрілі фіброцити, ядра їх ставали вузькими, темно профарбованими. Такі зрілі фіброцити спостерігалися переважно серед тяжів поверхневих новоутворених колагенових волокон та переважали в дослідній групі. По мірі наближення до зони виразки у поверхневому епітелії прогресивно збільшувалася кількість клітин, що продукують слиз.

Ступінь запальної інфільтрації в біоптатах дослідної групи був достовірно менший ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента), ніж у групі порівняння (табл. 4.10).

Таблиця 4.10

Щільність розташування клітинних елементів власної пластинки СО шлунку в зоні виразкового дефекту на 7 добу дослідження (із розрахунку на 1 мм²)

Клітинні елементи	Групи пацієнтів		Достовірність відмінностей (t-критерій Ст'юдента)
	Група порівняння	Дослідна група	
ПЯЛ	450±9,7	390±8,7	p<0,01
МФ	64,3±4,9	63,5±5,5	p>0,05
ЛЩ	240±16,5	180±19,9	p<0,01
ПЩ	52±4,5	43±5,1	p<0,05
ФБ	151±13,1	179±15,9	p<0,01

Крім того, порівнюючи дані таблиці 4.9 та 4.10 ми виявили прогресивне зменшення ПЯЛ в дослідній групі приблизно в 1,2 рази, що свідчить про зменшення запальної реакції в тканинах, що оточують виразковий дефект.

Натомість кількість ФБ на 7 добу в дослідній групі зросла не лише у порівнянні із групою порівняння, а й у динаміці, що вказує на підвищення активності репаративних процесів у виразкових дефектах шлунку.

На 14 добу у групі порівняння у біоптатах виразкових дефектів, що загоюються, шар грануляційної тканини був найбільш виражений, шар некрозу практично повністю зникав (рис. 4.6). Спостерігалися ділянки, які містять досить велику кількість фібробластів, макрофагів та лімфоцитів, інші ж ділянки знаходилися у стані фіброзу. У таких зонах розміщувалися колагенові пучки та нечисленні кровоносні судини. Між фібробластами спостерігали багато аморфної або дрібнозернистої проміжної речовини, в якій містилося досить багато лімфоцитів та макрофагів, а також невеликі багатоядерні клітини.

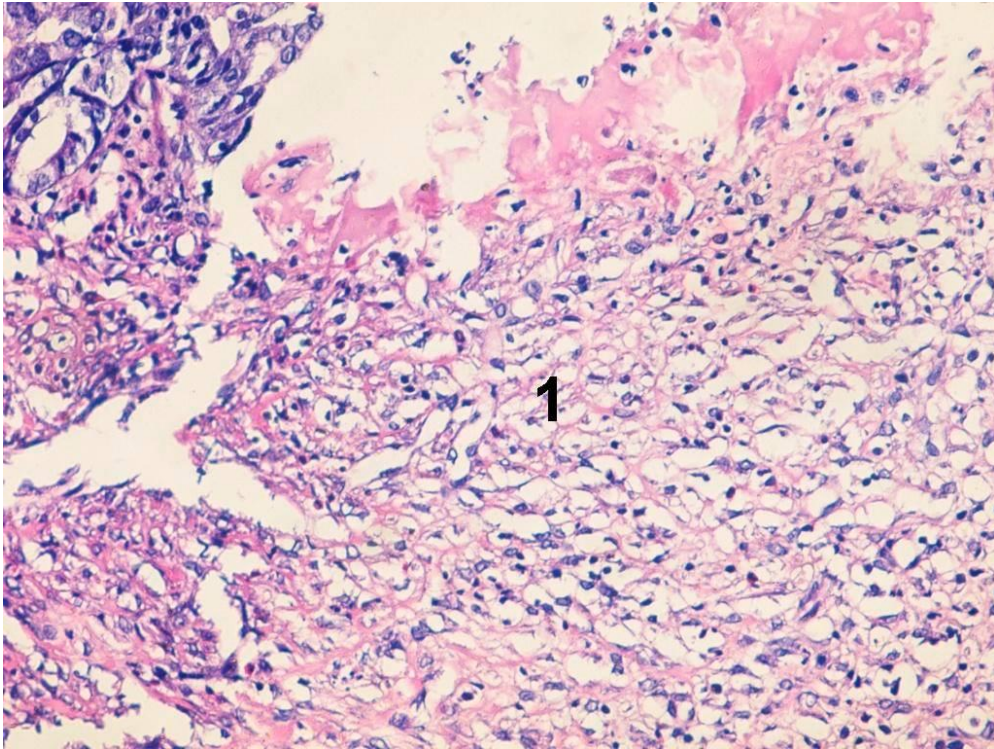


Рис. 4.6. Край хронічної виразки шлунку з вираженим шаром грануляційної тканини (1). Хронічна виразка шлунку, 14 доба. Забарвлення – гематоксилін та еозин, x400.

В дослідній групі епітелій ямок мав в цілому життєздатний вигляд (рис. 4.7). Цитоплазма його клітин помірно заповнена секретом, базофільна, що свідчить про велику кількість рибонуклеїдів. Зустрічалися фігури мітотичного поділу. Проліферація клітин в глибоких частинах ямок призводила до їх подовження та набуття ними звивистого або штопороподібного вигляду. В частині випадків відбувалося практично повне відновлення секреторного складу шлункових епітеліоцитів з незначною атрофією СО шлунку.

Молода сполучна тканина не мала великої кількості грануляцій, так як була відносно бідна судинами та фібробластами.

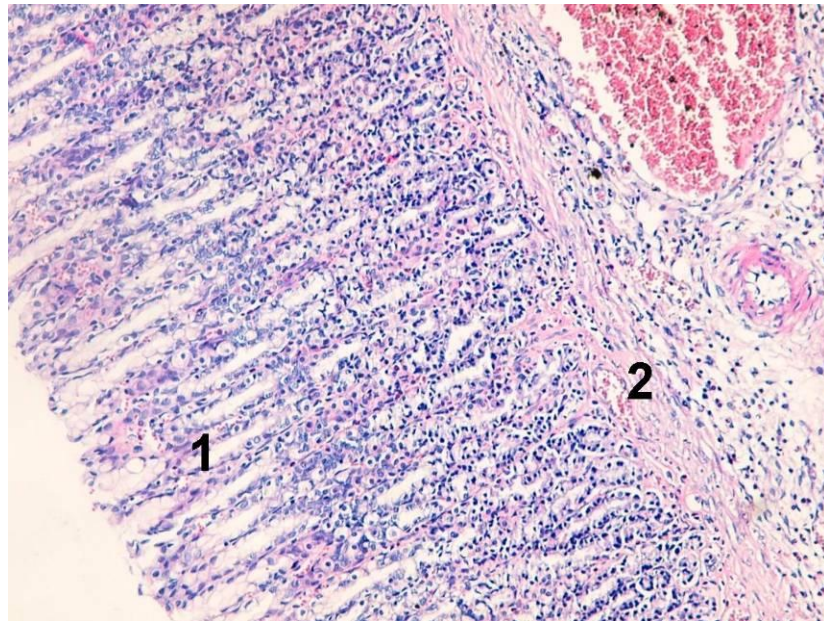


Рис. 4.7. Відновлений епітелій (1) виразкового дефекта шлунку з вираженим шаром грануляційної тканини (2). Хронічна виразка шлунку, 14 доба. Забарвлення – гематоксилін та еозин, x200.

Щодо аналізу щільності розташування клітинних елементів власної пластинки СО шлунку в зоні виразкового дефекту, то тут слід відмітити подальше прогресивне зменшення запальної інфільтрації як в дослідній групі, так і в групі порівняння (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Щільність розташування клітинних елементів власної пластинки СО шлунку в зоні виразкового дефекту на 14 добу дослідження (із розрахунку на 1 мм²)

Клітинні елементи	Групи пацієнтів		Достовірність відмінностей (t-критерій Ст'юдента)
	Група порівняння	Дослідна група	
ПЯЛ	425±8,9	340±9,5	p<0,01
МФ	63,5±5,1	62,6±5,4	p>0,05
ЛЦ	221±13,9	120±17,7	p<0,01
ПЦ	45±5,1	32±4,8	p<0,01
ФБ	189±12,5	198±14,1	p<0,01

Проте слід зазначити, що незважаючи на прогресивне зниження показників запальної інфільтрації, темпи її на 14 добу дещо знижуються в обох групах порівняно із аналогічними показниками на 7 добу дослідження (рис. 4.8, 4.9, 4.10). Це, на нашу думку, пояснюється виснаженням локальних репаративних можливостей стінки шлунку в групі порівняння та поступовим зменшенням стимулюючого впливу ін'єктованої плазми збагаченої тромбоцитами в дослідній групі.

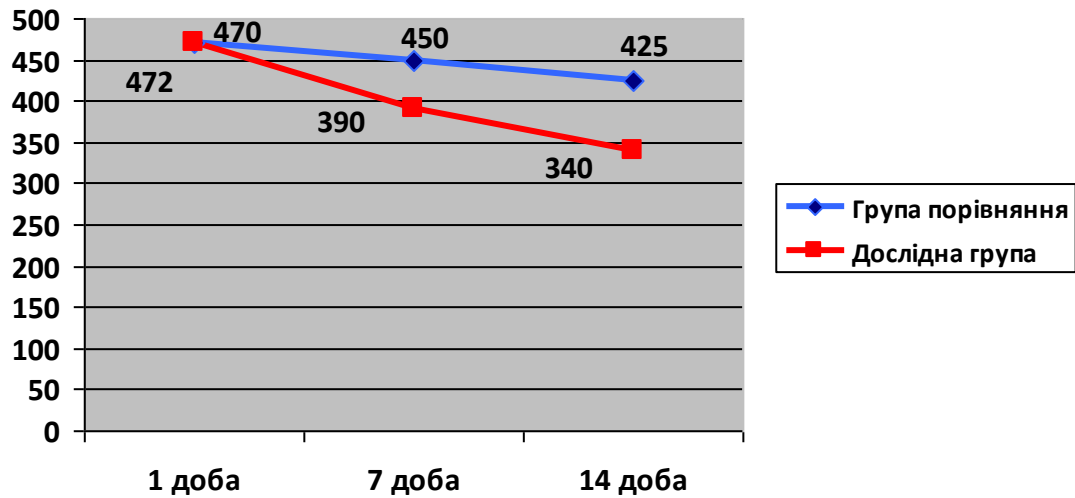


Рис. 4.8. Динаміка зміни кількості поліморфноядерних лейкоцитів (ПЯЛ) в біоптатах слизової оболонки.

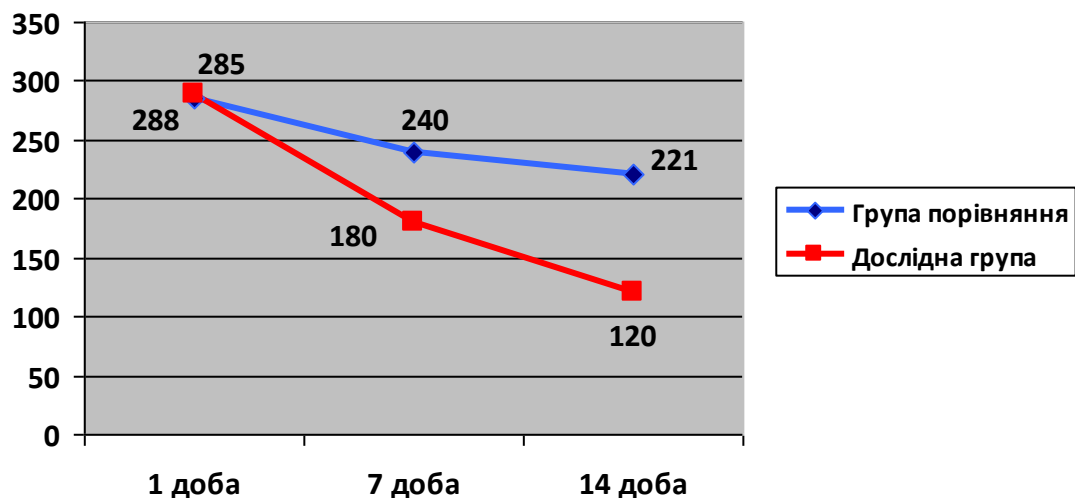


Рис. 4.9. Динаміка зміни кількості лімфоцитів (ЛЦ) в біоптатах слизової оболонки.

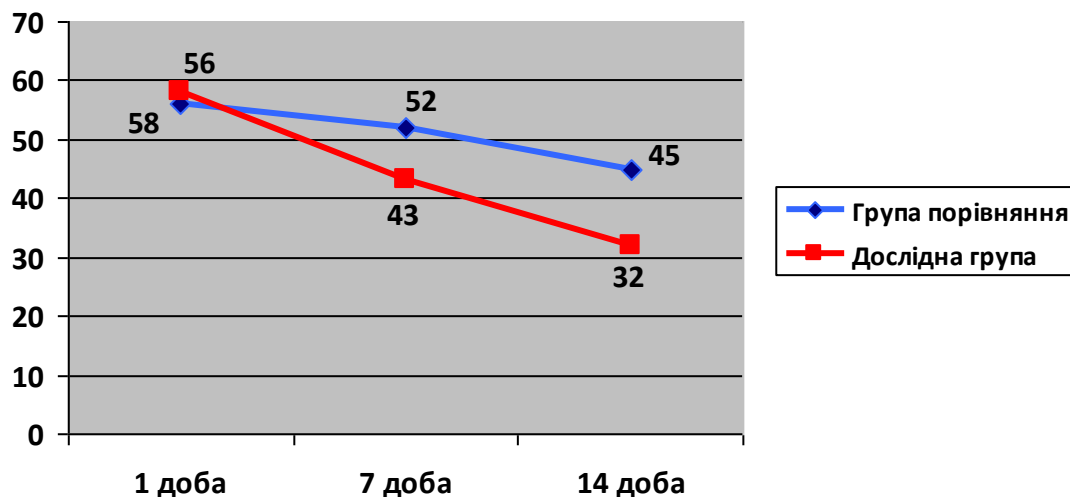


Рис. 4.10. Динаміка зміни кількості плазмоцидів (ПЦ) в біоптатах слизової оболонки.

Схожа тенденція прослідковувалася у випадку зростання кількості фібробластичних елементів. Незважаючи на поступове прогресивне зростання їх кількості та достовірні ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) відмінності як у порівнянні із групою порівняння, так і у динаміці, темпи зростання даного показника на 14 добу були меншими, ніж на 7 добу дослідження (рис. 4.11).

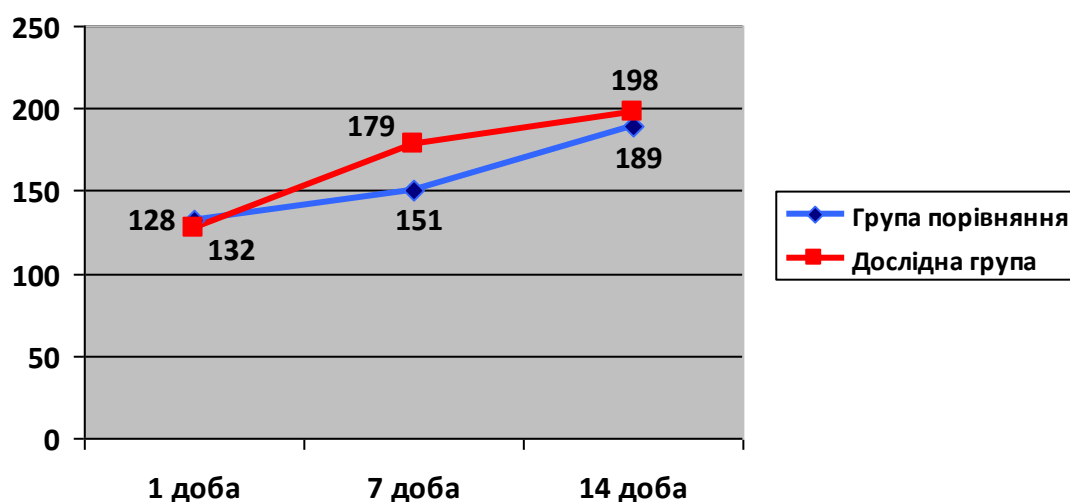


Рис. 4.11. Динаміка зміни кількості фібробластів (ФБ) в біоптатах слизової оболонки.

Також слід зауважити, щільність поліморфноядерних лейкоцитів у власній пластинці слизової оболонки шлунку зменшилася із $472 \pm 9,8$ /мм² на 1 добу до $340 \pm 9,5$ /мм² на 14 добу, тобто зменшення становило 27,9%.

В той же час щільність елементів фібробластичного ряду зросла із $128 \pm 12,2$ /мм² на 1 добу до $198 \pm 14,1$ /мм² на 14 добу, тобто приріст становив 54,7%.

Таким чином, морфологічне дослідження свідчить, що використання плазми збагаченої тромбоцитами при лікуванні хронічних виразок шлунку призводить до швидшого пригнічення запалення та прискорює формування грануляційної тканини та процеси репаративної регенерації загалом краще ніж стандартна противиразкова терапія.

Висновки:

1. Локальне введення плазми збагаченої тромбоцитами зменшує запальну відповідь та стимулює проліферацію шлункових епітеліоцитів на 7 добу із відновленням їх секреторної активності та епітелізацією виразок на 14 добу, а також активацією фібробластичної реакції упродовж всього терміну дослідження.
2. Плазма збагачена тромбоцитами створює умови для нормального перебігу реparatorних процесів хронічної виразки шлунку, забезпечуючи протинабряковий, протизапальний ефект (зниження щільності поліморфноядерних лейкоцитів в біоптатах на 27,9%) із активацією фібробластів (збільшення щільності на 54,7%) протягом 14 діб, що сприяє безрубцовому загоєнню виразки.

4.3. Аналіз інтенсивності абдомінального больового синдрому та якості життя пацієнтів із хронічними виразками шлунку

У всіх пацієнтів нашого дослідження на 1, 7 та 14 добу, а у пацієнтів із виразковими дефектами великих розмірів також і на 21 добу визначали якість життя за даними опитувальника GSRS.

Особливу увагу приділяли питанням 1 (біль або дискомфорт у верхніх відділах живота або в ділянці шлунку) та 4 (голодні болі), які характеризують абдомінальний больовий синдром.

Градація больових відчуттів в опитувальнику GSRS була наступною:

1. Не турбували – 1 бал.
2. Незначний дискомфорт – 2 бали.
3. Помірний дискомфорт – 3 бали.
4. Середній дискомфорт – 4 бали.
5. Відносно сильний (проте терпимий) дискомфорт – 5 балів.
6. Сильний дискомфорт – 6 балів.
7. Дуже сильний дискомфорт – 7 балів.

Слід зазначити, що при ініціальному опитуванні середні показники інтенсивності абдомінального больового синдрому у пацієнтів групи порівняння складала $4,05 \pm 0,65$ балів, а у пацієнтів дослідної групи – $4,00 \pm 0,69$ балів. При цьому статистично достовірної різниці доведено не було ($p > 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні).

Для всього контингенту нашого дослідження даний показник становив $4,03 \pm 0,67$ балів достовірно ($p > 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні) не відрізнявся від показників інтенсивності больових відчуттів як у групі порівняння, так і у дослідній групі, що свідчить про рівномірний розподіл у групах.

У жодного із пацієнтів нашого дослідження сила больових відчуттів як по кожному із питань, так і середня, не перевищували 5 балів, тобто максимальні больові відчуття проявлялися відносно сильним (проте терпимим) дискомфортом. Протягом всього дослідження у переважної

більшості пацієнтів спостерігалася тенденція до зменшення больовий синдром, або відсутність динаміки.

Лише один пацієнт із дослідної групи при обстеженні на 7 добу скаржився на незначне збільшення больових відчуттів. При ендоскопічному дослідженні у даного пацієнта було виявлено збільшення площі виразкового дефекту малої кривизни антрального відділу шлунку, порівняно із ініціальним дослідженням. Проте, вже на 14 добу відмічалось як об'єктивне зменшення площі виразки, так і суб'єктивне зниження інтенсивності больового синдрому.

Показники інтенсивності синдрому абдомінального болю за даними опитувальника GSRS у пацієнтів нашого дослідження на 1, 7 та 14 добу наведені в таблиці 4.12.

Таблиця 4.12

Показники інтенсивності синдрому абдомінального болю за даними опитувальника GSRS на різних термінах дослідження

Терміни дослідження		Інтенсивність синдрому абдомінального болю, балів		Достовірність відмінностей на кожному терміні
		Група порівняння (n=27)	Дослідна група (n=23)	
1 доба	1	4,05±0,65 ^{*(2), *(3)}	4,00±0,69 ^{*(2), *(3)}	p>0,05
7 доба	2	3,54±0,72 ^{*(1), *(3)}	3,02±0,71 ^{*(1), *(3)}	p<0,05
14 доба	3	2,74±1,03 ^{*(1), *(2)}	1,30±0,42 ^{*(1), *(2)}	p<0,01

Примітка. * Результати відрізняються достовірно, p<0,01, U-критерій Манна–Уїтні.

В дужках біля показників інтенсивності синдрому абдомінального болю наведено номери строк, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах одного стовпчика (однієї групи).

Як видно із таблиці 4.12, як у дослідній групі, так і в групі порівняння прослідковується тенденція до зменшення числових показників інтенсивності синдрому абдомінального болю з часом.

Так, у групі порівняння на 7 добу відмічалось достовірне ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні) зменшення больових відчуттів із $4,05 \pm 0,65$ балів до $3,54 \pm 0,72$ балів, порівняно із 1 добою. На 14 добу цей показник складав $2,74 \pm 1,03$ балів і також достовірно відрізнявся від показників, отриманих під час ініціального опитування ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні). Показник інтенсивності болю на 14 добу також достовірно відрізнявся і від аналогічного показника на 7 добу ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні).

Отримані дані свідчать про прогресивне достовірне ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні) зниження больових відчуттів у пацієнтів групи порівняння.

Аналогічна тенденція прослідковувалася і в дослідній групі, де локальні репаративні процеси підсилювалися введенням плазми збагаченої тромбоцитами. Так, інтенсивність синдрому абдомінального болю на 14 добу ($1,30 \pm 0,42$ балів) була значно меншою від аналогічного показника на 1 ($4,00 \pm 0,69$ балів) та 7 ($3,02 \pm 0,71$ балів) добу. Крім того, показники інтенсивності болю на 1 та 7 добу відрізнялися достовірно ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні).

Отже, в дослідній групі прогресивне зменшення інтенсивності синдрому абдомінального болю протягом всього терміну спостереження мало достовірний характер ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні).

Крім оцінки динаміки інтенсивності больових відчуттів всередині кожної групи, також ми порівнювали даний показник в обох групах на кожному терміні дослідження. Так, якщо 1 добу дослідження жодних відмінностей ($p > 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні) між показниками больового синдрому в обох групах не було, то на 7 добу нами було помічено достовірно більш швидке ($p < 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні) зменшення больових

відчуттів у дослідній групі. На 14 добу відмінності були ще більш вираженими та мали більшу достовірність ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні).

Також, слід зауважити, що в дослідній групі показник інтенсивності абдомінального больового синдрому склав $1,30 \pm 0,42$ балів, тобто знаходився в межах 1–2 балів, що свідчить про нормальну якість життя.

Отримані дані свідчать про позитивний вплив плазми збагаченої тромбоцитами на репаративні процеси у виразкових дефектах стінки шлунку, що проявляється зменшенням інтенсивності больових відчуттів у пацієнтів.

Графічне зображення описаних залежностей наведено на рисунку 4.12.

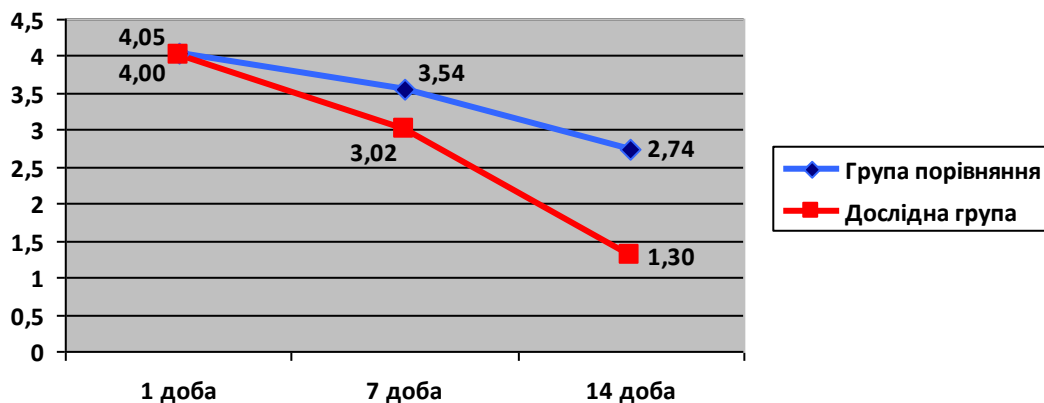


Рис. 4.12. Динаміка показники інтенсивності синдрому абдомінального болю за даними опитувальника GSRS в обстежуваному контингенті.

У групі порівняння інтенсивність абдомінального больового синдрому протягом дослідження (14 діб) зменшилася із $4,05 \pm 0,65$ балів до $2,74 \pm 1,03$ балів, що складає 32,3%.

У дослідній групі аналогічний показник зменшився із $4,00 \pm 0,69$ балів до $1,30 \pm 0,42$ балів, що складає 67,5%.

Як і при аналізі показників динаміки змін площі виразкових дефектів, нами було вирішено перевірити вплив розмірів виразки на інтенсивність больових відчуттів. При цьому, аналогічно до вимірювання площі виразкових дефектів, у пацієнтами із виразками великих розмірів визначення інтенсивності больових відчуттів проводили на 1, 7, 14 та 21 добу.

Динаміка інтенсивності больових відчуттів за даними опитувальника GSRS у пацієнтів із виразковими дефектами середніх та великих розмірів наведена в таблицях 4.13 та 4.14.

Таблиця 4.13

Динаміка інтенсивності больових відчуттів у пацієнтів із виразковими дефектами середніх розмірів

Терміни дослідження		Інтенсивність синдрому абдомінального болю, балів		Достовірність відмінностей на кожному терміні
		Група порівняння (n=17)	Дослідна група (n=14)	
1 доба	1	4,05±0,65** ⁽²⁾ , * ⁽³⁾	4,00±0,69* ⁽²⁾ , * ⁽³⁾	p>0,05
7 доба	2	3,54±0,72* ⁽¹⁾ , * ⁽³⁾	3,02±0,71* ⁽¹⁾ , * ⁽³⁾	p<0,05
14 доба	3	2,74±1,03* ⁽¹⁾ , * ⁽²⁾	1,30±0,42* ⁽¹⁾ , * ⁽²⁾	p<0,01

Примітка.

* Результати відрізняються достовірно, p<0,01, U-критерій Манна–Уїтні.

** Результати відрізняються достовірно, p<0,05, U-критерій Манна–Уїтні.

В дужках біля показників інтенсивності синдрому абдомінального болю наведено номери строк, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах одного стовпчика (однієї групи).

Таблиця 4.14

Динаміка інтенсивності больових відчуттів у пацієнтів із виразковими дефектами великих розмірів

Терміни дослідження		Інтенсивність синдрому абдомінального болю, балів		Достовірність відмінностей на кожному терміні
		Група порівняння (n=10)	Дослідна група (n=9)	
1 доба	1	4,40±0,46** ⁽²⁾ , * ⁽³⁾	4,39±0,49* ⁽²⁾ , * ⁽³⁾ , * ⁽⁴⁾	p>0,05
7 доба	2	3,95±0,44* ⁽¹⁾ , ** ⁽⁴⁾	3,50±0,43* ⁽¹⁾ , * ⁽³⁾ , * ⁽⁴⁾	p<0,05
14 доба	3	3,55±0,44* ⁽¹⁾	1,77±0,26* ⁽¹⁾ , * ⁽²⁾	p<0,01
21 доба	4	3,35±0,47* ⁽¹⁾ , ** ⁽²⁾	1,67±0,25* ⁽¹⁾ ,* ⁽²⁾	p<0,01

Примітка.

* Результати відрізняються достовірно, p<0,01, U-критерій Манна–Уїтні.

** Результати відрізняються достовірно, p<0,05, U-критерій Манна–Уїтні.

В дужках біля показників інтенсивності синдрому абдомінального болю наведено номери строк, порівняно з якими виявлена достовірна відмінність показників у межах одного стовпчика (однієї групи).

Як видно із таблиць 4.12, 4.13 та 4.14, динаміка зниження інтенсивності абдомінального больового синдрому практично не залежала від розмірів виразкових дефектів. Дані таблиць 4.13 та 4.14 лише незначно відрізняються від даних таблиці 4.12, де представлена динаміка змін інтенсивності больових відчуттів без урахування розмірів виразок.

Слід лише зазначити, що при аналізі показників інтенсивності болю пацієнтів групи порівняння із великими виразковими дефектами, була відсутня достовірна різниця (p>0,05, U-критерій Манна–Уїтні) між показниками на 7 та 14 добу, хоча числові значення і відрізнялися (3,95±0,44 балів та 3,55±0,44 балів, відповідно).

Також, у пацієнтів обох груп із виразками великих розмірів позитивна динаміка між 14 та 21 добою була недостовірною ($p > 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні). Натомість, порівняно із 7 добою показники інтенсивності больового синдрому на 21 були достовірно нижчими в обох групах ($p < 0,05$ для групи порівняння, $p < 0,01$ для дослідної групи, U-критерій Манна–Уїтні).

У дослідній групі у пацієнтів із виразковими дефектами середніх розмірів на 14 добу інтенсивність абдомінального больового синдрому складала $1,30 \pm 0,42$ балів. У пацієнтів із виразками великих розмірів даний показник на 14 добу становив $1,77 \pm 0,26$ балів, а на 21 добу – $1,67 \pm 0,25$ балів. Тобто, дані показники знаходилися в межах 1–2 балів, що свідчить про нормальну якість життя.

Отже, незалежно від розмірів виразкового дефекту застосування плазми збагаченої тромбоцитами дозволяє знизити інтенсивність абдомінального больового синдрому та нормалізувати якість життя пацієнтів із хронічними виразками шлунку.

Висновки:

1. Незалежно від розмірів виразкового дефекту, медикаментозна противиразкова терапія дозволяє протягом 14 діб достовірно ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні) знизити інтенсивність абдомінального больового синдрому на 32,3% без досягнення нормалізації якості життя у пацієнтів із хронічними виразками шлунку.
2. Незалежно від розмірів виразкового дефекту, однократне застосування плазми збагаченої тромбоцитами в комбінації з медикаментозною противиразковою терапією дозволяє протягом 14 діб достовірно ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні) знизити інтенсивність абдомінального больового синдрому на 67,5% та нормалізувати якість життя у 100% пацієнтів із хронічними виразками шлунку.

Список публікацій за матеріалами розділу:

1. Усенко О. Ю. Ефективність застосування плазми збагаченої тромбоцитами, в лікуванні хронічних виразок шлунка / О. Ю. Усенко, Я. В. Радьога, Д. І. Гребенюк // Клін. анатомія та оператив. хірургія. – 2015. – № 3. – С. 86 – 89.
2. 4. Поєднання клітинних технологій та мініінвазивної хірургії в лікуванні хронічної виразки шлунка / О. Ю. Усенко, Я. В. Радьога, Д. І. Гребенюк, О. К. Стукан // Клін. хірургія. – 2015. – № 10. – С. 23 – 26.
3. Аналіз роботи ендоскопічного відділення Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М. І. Пирогова за 2011–2013 роки / В. В. Петрушенко, В. М. Коваль, Ю. А. Дорожинський, Я. В. Радьога // Вісн. Вінниц. нац. мед. ун-ту. – 2014. – № 1. – С. 290 – 293.
4. Радьога Я. В. Особливості протікання запальної реакції у виразкових дефектах шлунку в умовах біологічної стимуляції репаративних процесів / Я. В. Радьога, Д. І. Гребенюк, І. В. Таран // Матеріали IV наук.-практ. конф. “Запалення: морфологічні, патофізіологічні, терапевтичні та хірургічні аспекти”. – Вінниця, 2015. – С. 61.

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Експериментальна частина дисертаційної роботи виконувалася на базі віварію Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Всі дослідження виконувалися з дозволу комітету з біоетики, згідно “Положення про використання тварин в біомедичних дослідженнях”, з дотриманням основних положень Хельсінської декларації про гуманне ставлення до тварин (1964-2000 р.), GLP (1981 р.), Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин (1977 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р..

Експериментальне дослідження було виконане на 98 білих лабораторних щурах та складалася із двох серій експериментів.

Перша серія дослідів, виконана на 14 щурах, полягала у оптимізації моделі симетричних виразкових уражень шлунку.

Оригінальна методика (моделювання симетричних виразок шлунку за методикою Susumi Okabe, 2005 – ацетатна виразка III типу) полягає у інтралюмінальному введенні 0,2 мл 60% оцтової кислоти через вікно вікончатого пінцета, накладеного на м'язову частину шлунку, протягом 45 секунд. В результаті цього утворюються дзеркальні виразки однакових розмірів на передній та задній стінках шлунку.

Питання про оптимізацію існуючої експериментальної моделі постало через наявність ряду недоліків та ускладнень при її виконанні. Так, після затискання передньої та задньої стінок шлунку між браншами вікончатого затискача, стінки щільно прилягають одна до одної, а тому технічно важко при введенні оцтової кислоти розмістити кінчик голки між ними. Крім того, оцтова кислота, що знаходиться під тиском у просторі між передньою та задньою стінками шлунку, може виходити у черевну

порожнину через канал у стінці шлунку створений голкою, що веде до утворення внутрішньої шлункової нориці, локального перитоніту та стимулює спайковий процес. Ще одним недоліком є те, що після зняття вікончатого затискача, оцтова кислота потрапляє у порожнину шлунку, де може створювати додаткові виразкові ураження.

Для вирішення даної проблеми нами було запропоновано пристрій для моделювання симетричних виразкових уражень шлунку (позитивне рішення по заявці на Патент України на корисну модель). Відсутність описаних недоліків оригінальної моделі досягається тим, що голка вводиться в порожнину шлунку до затискання бранш вікончатого затискача, а точка її введення знаходиться на віддалі від місця моделювання виразкових дефектів. Крім того, голка залишається між браншами затискача до моменту його зняття, тобто дослідник має можливість видалити практично весь об'єм введеної оцтової кислоти.

На двох групах піддослідних тварин (контрольній та дослідній) було продемонстровано не лише легше позиціонування голки при використанні розробленого нами пристрою, а й відсутність таких ускладнень, як перфорація шлунку та спайковий процес в ділянці передньої стінки шлунку, причому отримані показники відрізнялися достовірно ($p < 0,01$, точний двосторонній критерій Фішера). Хоча додаткові виразкові дефекти при використанні авторської методики не спостерігалися в жодному випадку, статистично достовірність підтверджена не була ($p > 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера).

Морфологічне дослідження продемонструвало ідентичну мікроскопічну картину в обох групах. Крім того, мікроскопічне дослідження підтвердило літературні дані, згідно яких ацетатна виразка шлунку за морфологічними характеристиками є аналогом хронічної виразки шлунку у людини.

Отримані дані свідчать, що авторська модель симетричних виразкових уражень шлунку дозволяє не лише зберегти всі переваги оригінальної

методики, а й достовірно скоротити кількість ускладнень (перфорація, спайковий процес), що їй притаманні.

Друга серія дослідів, яка полягала у порівнянні ефективності запропонованих способів прискорення регенерації виразкових дефектів шлунку, була виконана на 84 щурах із використанням авторської моделі, описаної вище. Піддослідні тварини були поділені на 5 груп – контрольну (12 щурів) та 4 дослідні (по 18 щурів у кожній).

З метою стимуляції репаративних процесів у виразці передньої стінки шлунку виконували локальне введення аутологічного очищеного ліпоаспірату, даларгіну, плазми збагаченої тромбоцитами, комбінації плазми збагаченої тромбоцитами та даларгіну.

Вибір аутологічного очищеного ліпоаспірату пояснюється тим фактом, що він є донатором поліпотентних стромальних мезенхімальних стовбурових клітин. Згідно літературних даних, ці клітини здатні диференціюватися в будь-які тканини, що визначається місцем їх трансплантації. Крім того, їх кількість в жировій тканині, за деякими даними, перевищує кількість стовбурових клітин у кістковому мозку, а процедура їх забору є менш небезпечною та технічно легшою за пункцію кісткового мозку.

Препарат даларгін хоча й не являється стимулятором репарації або донатором пластичних матеріалів, проте по ряду причин був обраний нами для локального периульцерозного введення. Так, при системному введенні препарат не лише знижує секрецію шлункового соку та має противиразкову дію, а й, у разі гострого панкреатиту, покращує мікроциркуляцію, зменшує набряк, обмежує вогнища некрозу панкреатичної паренхіми та сприяє їх заміщенню повноцінної тканиною. Саме тому, нами було висловлене припущення, що введення даларгіну в периульцерозну зону може більш ефективно, ніж при системному введенні, знижувати секрецію шлункового

соку, зменшувати набряк тканин в зоні виразкового дефекту та сприяти більш швидкій регенерації тканин стінки шлунку.

Плазма збагачена тромбоцитами є потужним стимулятором репаративних процесів, що протягом багатьох років успішно використовується у ортопедії та травматології, спортивній медицині, флебології. Ефекти її пов'язані із тим, що тромбоцити являються депо факторів росту та диференціації. При пошкодженнях тканин тромбоцити не лише забезпечують локальний гемостаз шляхом утворення кров'яного згустку, а й транспортують в місце пошкодження всі необхідні стимулятори репаративних процесів. Саме тому, штучне створення в високій концентрації тромбоцитів у пошкодженій тканині шляхом ін'єкційного введення плазми збагаченої тромбоцитами, дозволяє значно прискорити процес її відновлення.

При застосуванні комбінації плазми збагаченої тромбоцитами та даларгіну, очікувалося взаємне підсилення та поєднання ефектів кожного із компонентів.

Всі стимулятори репарації вводилися в однаковому об'ємі (0,1 мл) субмукозно в 5 точках по периметру виразкового дефекту. Для зручності введення обраних препаратів нами було розроблено пристрій для керування шприцом (Патент України на корисну модель № 97617), який дозволяє тримати шприц у руці аналогічно до письмового приладдя, що створює умови для більш прецизійного виконання маніпуляцій.

Стимуляцію репаративних процесів виконували на 3 добу з моменту моделювання симетричних виразкових уражень шлунку, коли як за літературними, так і за нашими власними даними формувалися ацетатні виразки аналогічні за морфологічною картиною до хронічних виразок шлунку.

Для оцінки перебігу репаративних процесів, щури виводилися із експерименту на 3, 10 та 17 добу з моменту моделювання виразки, або 1, 7 та 14 добу з моменту стимуляції репарації. При цьому, макроскопічно оцінювали стан стінок шлунку, черевної порожнини, наявність у ній

ексудату, вимірювали площу сформованих виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку, видаляли шлунок, виконували гастротомію та макроскопічно оцінювали стан слизової оболонки. Матеріал забирали на морфологічне дослідження.

Вимірювання площі виразкових дефектів проводили з мінімальною травматизацією без виконання гастротомії за авторською методикою (позитивне рішення по заявці на Патент України на корисну модель). Методика полягала у транслюмінації стінки шлунку шляхом проведення світлового пучка від зовнішнього джерела світла по оптоволоконному кабелю, введеному через рот піддослідної тварини в порожнину шлунку. Після візуалізації виразки, до стінки шлунку прикладали стерильну прозірку із нанесеною на неї міліметровою сіткою. Підраховували кількість повних та неповних квадратів сітки розміром 1x1 мм над виразковим дефектом. Площа виразки визначалася сумою кількості всіх повних квадратів та половини кількості неповних квадратів. Показники площі фіксувалися.

Незважаючи на виведення піддослідних тварин із експерименту, нами була надана перевага прижиттєвому вимірюванню площі виразкових дефектів. Це пов'язано із тим, що після смерті тварини шлунок стає атонічним, а, отже, буде мати місце незначна зміна площі виразкового дефекту в сторону її збільшення.

Для оцінки патоморфологічних змін слизової оболонки шлунку вивчали експериментальний матеріал. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксиліном та еозином, суданом III, пікрофуксином за ван Гізоном, основним коричневим за Шубічем, комбінацією основного коричневого та міцного зеленого барвника, ШИК-реакції з альціановим синім. Отримували та обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну обробку отриманих результатів. Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1 мм²).

В другій серії експериментів нами були отримані наступні результати.

Після виконання лапаротомії та ревізії черевної порожнини як на 7, так і на 14 добу, у всіх групах жодного випадку перитоніту внаслідок перфорації стінки шлунку виявлено не було. Масивний спайковий процес також не спостерігався. В окремих випадках мали місце незначні зрощення передньої стінки шлунку із великим чепцем. Відсутність втягнення в спайковий процес інших сусідніх органів черевної порожнини (петлі тонкої кишки, частки печінки) пояснюється тим, що саме великим чепцем вкривалося місце проколу після виконання обколювання виразкових дефектів стимуляторами репарації та ревізії черевної порожнини. Такі зрощення стінки шлунку та великого чепця виникали в місцях ін'єкційних проколів стінки шлунку і, можливо, пов'язані із незначними огріхами у техніці виконання маніпуляції. Проте, в жодному випадку зрощення не перешкоджали прижиттєвій візуалізації та вимірюванню площі виразкових дефектів.

Не залежно від групи спостереження, на 7 добу жодних особливих морфологічних змін нами не було помічено.

Статистичний аналіз результатів вимірювання площі виразкових дефектів в контрольній та дослідних групах на 7 добу не виявив жодних статистичних відмінностей як в межах кожної групи (порівняння площі виразкових дефектів передньої та задньої стінки), так і при порівнянні даних всіх груп між собою ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

Натомість, на 14 добу у всіх дослідних групах спостерігалось значне зменшення розмірів виразкових дефектів передньої стінки шлунку, а в частині випадків навіть повне загоєння їх. Так, в контрольній групі жодного випадку повного загоєння виразок не спостерігалось, в групі 1 (ліпоаспірат) візуально відмічалось загоєння 2 (28,6%) виразкових дефектів, в групі 2 (даларгін) – 3 (42,9%), в групі 3 (PRP) – 5 (71,4%), в групі 4 (PRP + даларгін) – 6 (85,7%) виразкових дефектів.

При статистичному порівнянні результатів загоєння виразкових дефектів було знайдено статистично достовірну різницю між групою 3 та

контрольною групою ($p < 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера), а також між групою 4 та контрольною групою ($p < 0,01$, точний двосторонній критерій Фішера). При цьому, результати у групах 3 та 4 достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера). Аналогічно, жодних достовірних відмінностей між іншими дослідними групами, а також при порівнянні цих груп із контролем статистично доведено не було ($p > 0,05$, точний двосторонній критерій Фішера).

Аналіз результатів вимірювання площі виразкових дефектів в контрольній та дослідних групах на 14 добу у контрольній групі площі виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку достовірно не відрізнялися ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента), що пояснюється відсутністю стимуляції репарації. Натомість, у всіх дослідних групах, де стимуляція реparatorних процесів мала місце, було статистично доведено достовірні відмінності між аналогічними показниками ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Дані результати свідчать про те, що стимуляція процесів репарації у виразкових дефектів передньої стінки шлунку будь-яким із виконаних методів дозволяє достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) прискорити процес загоєння виразок, а саме зменшити їх площу.

Крім того, нами було оцінено ефективність всіх запропонованих методик між собою, порівнюючи між собою площі виразкових дефектів лише передньої стінки шлунку.

Так, нами було виявлено достовірно кращі результати загоєння виразок шлунку в умовах локальної стимуляції репаративних процесів (у всіх 4 дослідних групах), порівняно із контролем, де загоєння відбувалося в звичайних умовах ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Також статистично достовірно методики із використанням плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном краще стимулювали процеси репарації, ніж застосування аутологічного очищеного ліпоаспірат ($p < 0,05$, t-критерій Ст'юдента). При цьому достовірних відмінностей між

показниками третьої та четвертої дослідних груп нами доведено не було ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

При аналізі динаміки перебігу репаративного процесу, ми порівнювали площі виразкових дефектів передньої стінки шлунку у всіх групах на 7 та 14 добу. Так, на 14 добу було продемонстровано достовірно кращі показники ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) у всі дослідних групах у порівнянні із аналогічними показниками на 7 добу. Натомість, в контрольній групі зменшення площі виразкових дефектів не було, тобто жодних достовірних змін не відбулося ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

Графічне зображення динаміки репаративних процесів у виразкових дефектах передньої стінки шлунку зображено на рис. 5.1.

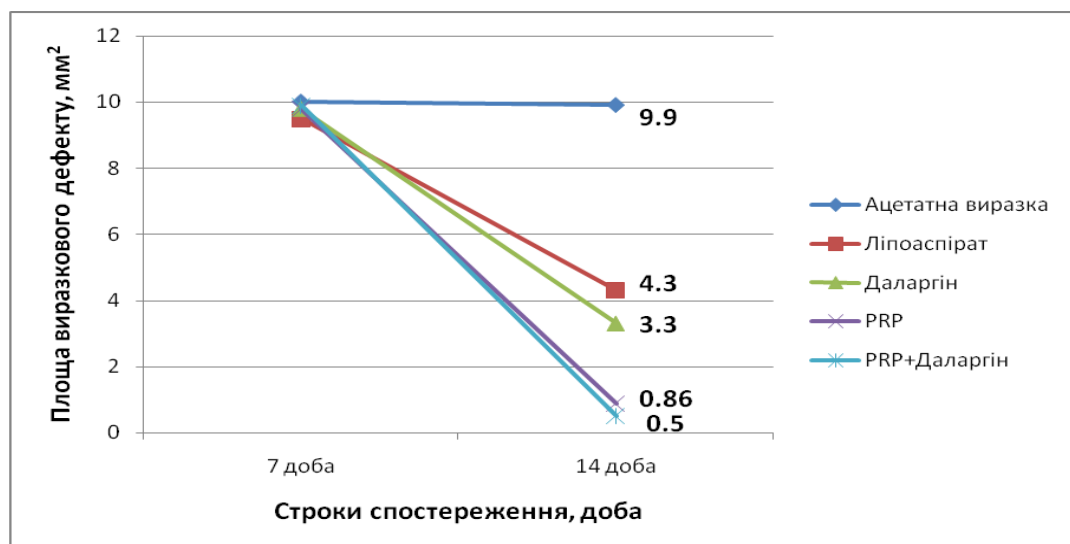


Рис. 5.1. Динаміка репаративних процесів у виразкових дефектах передньої стінки шлунку.

Узагальнюючи результати вимірювання площі виразкових дефектів шлунку в експерименті можна зробити наступні висновки:

1. Застосування будь-якого із запропонованих стимуляторів репаративних процесів дозволяє достовірно прискорити загоєння виразкових дефектів шлунку ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

2. Серед чотирьох запропонованих методик прискорення загоєння виразкових дефектів найкращі результати були отримані при використанні плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном, при цьому достовірних відмінностей між даними двома групами нами виявлено не було ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

Результати гістологічного дослідження також демонстрували прискорення регенерації тканин, хоча й в різній мірі, при застосуванні усіх запропонованих нами методик. Натомість, в контрольній групі було відмічено незначне прогресування виразкового процесу та ще більшу його хронізацію.

Так, при аналізі глибини виразкових дефектів у всіх групах на різних термінах дослідження було встановлено, прогресивне зменшення даного показника в усіх групах (рис. 5.2).

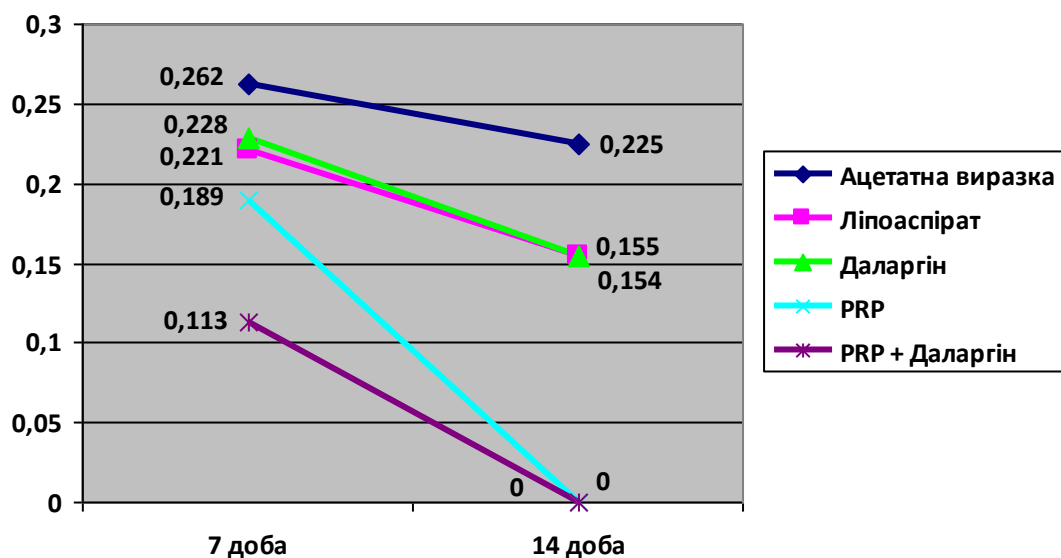


Рис. 5.2. Динаміка зміни показників глибини виразкових дефектів.

Слід відмітити, що показники глибини виразкових дефектів при застосуванні будь-якого із способів прискорення репаративних процесів були достовірно меншими ($p < 0,001$, t-критерій Ст'юдента) у порівнянні із

контрольною групою як на 7, так і на 14 добу, причому найкращі показники було продемонстровано при застосуванні плазми збагаченої тромбоцитами та її комбінації з даларгіном.

Для оцінки вираженості запальних та проліферативних процесів процесів, а також динаміки їх змін нами було оцінено щільність розташування клітинних елементів власної пластинки слизової оболонки шлунку в зоні виразкових дефектів як на 7, так і на 14 добу експерименту (із розрахунку на 1 мм²).

Динаміка зміни кількості клітинних елементів запальної реакції у зразках слизової оболонки стінки шлунку у всіх групах наведена на рис. 5.3, 5.4, 5.5.

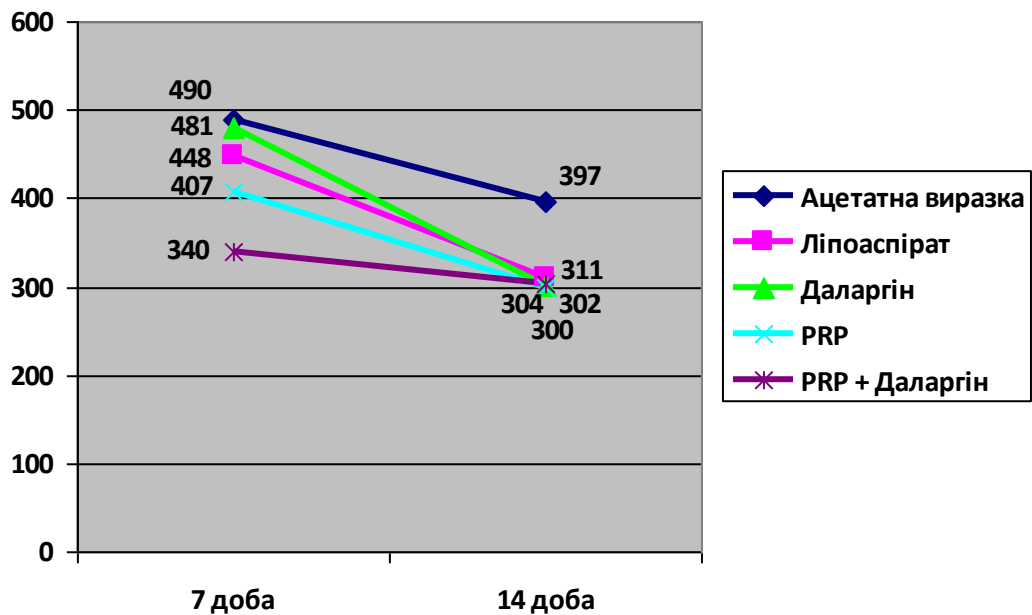


Рис. 5.3. Динаміка зміни кількості поліморфноядерних лейкоцитів в зразках слизової оболонки шлунку.

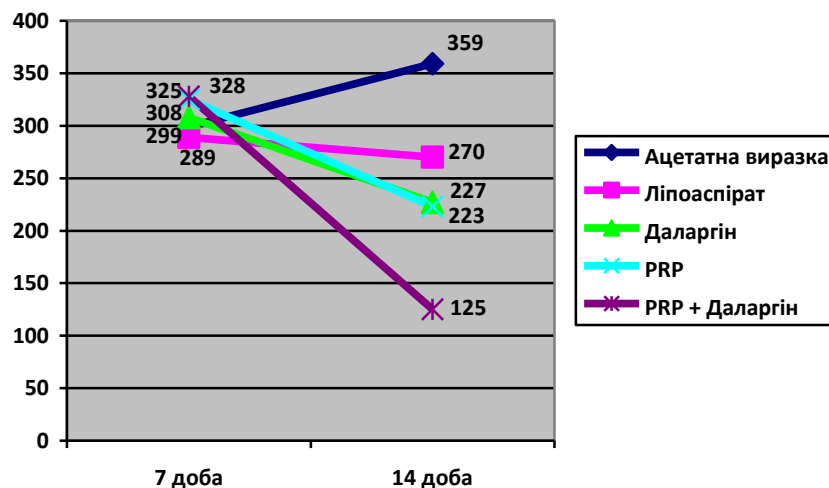


Рис. 5.4. Динаміка зміни кількості лімфоцитів в зразках слизової оболонки шлунку.

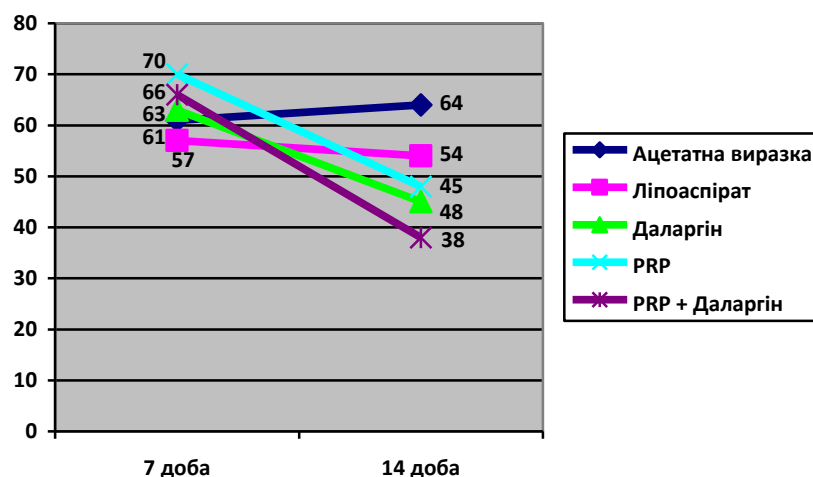


Рис. 5.5. Динаміка зміни кількості плазмоцидів в зразках слизової оболонки шлунку.

Аналіз показників кількості клітинних елементів запальної реакції виявив позитивну динаміку у всіх дослідних групах, причому найкращі показники було продемонстровано при застосуванні плазми збагаченої тромбоцитами та її комбінації з даларгіном. Натомість, у ацетатних виразках без корекції репаративних процесів відмічалось посилення кількісного

показника елементів запальної реакції переважно за рахунок лімфоцитів та плазмоцитів.

Динаміка зміни кількості клітинних елементів фібробластичного ряду у зразках слизової оболонки стінки шлунку у всіх групах наведена на рис. 5.6.

Як видно із рис. 5.6 прогресивне збільшення кількості фібробластів мало місце у всіх групах, причому найкращі показники знову було продемонстровано при застосуванні плазми збагаченої тромбоцитами та її комбінації з даларгіном.

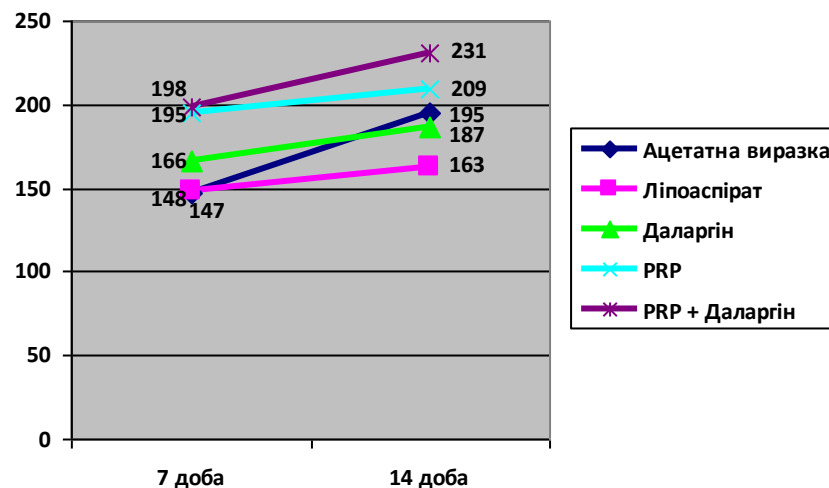


Рис. 5.6. Динаміка зміни кількості фібробластів в зразках слизової оболонки шлунку.

Підсумовуючи дані морфологічного дослідження можна зробити наступні узагальнюючі висновки:

1. При використанні оцтової кислоти у всіх піддослідних тварин виникала виразка, яка на 14 добу експерименту прогресувала та не епітелізувалася.
2. При застосуванні ліпоаспірату морфологічні зміни через 7 та 14 діб експерименту не забезпечували протинабрякового та протизапального впливу, проте глибина виразкового дефекту та ступінь запальних змін була достовірно меншою в порівнянні з ацетатною виразкою без

корекції ($p < 0,001$), а епітелізація на 14 добу експерименту визначалася у 28,6% експериментальних тварин.

3. Використання даларгіну призводило до активації запальної інфільтрації в зоні виразкового дефекту на 7 добу експерименту, проте на 14 добу показники запальної інфільтрації стабілізувалися, а повна епітелізація мала місце у 42,9% щурів.
4. Плазма збагачена тромбоцитами зменшувала запальну відповідь та стимулювала проліферацію шлункових епітеліоцитів на 7 добу із відновленням секреторної активності та епітелізацією виразок у 71,4% експериментальних тварин на 14 добу, а також активацією фібробластичної реакції упродовж всього терміну експерименту.
5. Плазма збагачена тромбоцитами у комбінації з даларгіном створює умови для нормального перебігу регенераторних процесів ацетатної виразки, забезпечуючи протинабряковий, протизапальний ефект із активацією макрофагальної реакції та міофіброblastів, що сприяє безрубцовому загоєнню виразки та її епітелізації у 85,7% експериментальних тварин.
6. За даними морфологічного дослідження, відновлення слизової оболонки шлунку у експериментальних тварин із ацетатною виразкою на фоні введення плазми збагаченої тромбоцитами у комбінації з даларгіном із зменшенням гіперпластичних та реактивно-запальних змін, стабілізацією внутрішньоклітинної секреції нейтральних муцинів слизової оболонки, незначним ступенем атрофії та фіброзу слизової оболонки шлунку після 14 доби свідчить, що дана комбінація препаратів є найбільш оптимальною.

В основу клінічної частини дисертаційної роботи покладено проспективне дослідження, що включало 50 пацієнтів із підтвердженим діагнозом хронічної виразки шлунку. Даний контингент пацієнтів проходив лікування у клініці кафедри хірургії №1 з курсом “Основи ендоскопічної та лазерної хірургії” Вінницького національного медичного університету

ім. М.І. Пирогова на базі ендоскопічного та хірургічного відділень Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М.І. Пирогова протягом 2015 року.

Критеріями відбору пацієнтів для нашого дослідження були:

1. Вік пацієнтів більше 18 років.
2. Підтверджений ендоскопічно та гістологічно діагноз хронічної виразки шлунку, що погано регенерує (12 і більше тижнів).
3. Виразкові дефекти середніх (1–2 см) та великих (2–3 см) розмірів.
4. Відсутність клінічно значимої супутньої патології.

Серед обстежених пацієнтів особи жіночої статі склали 22 (44,0%), чоловічої – 28 (56,0%). Середній вік пацієнтів складав $46,9 \pm 10,4$ років. Для жінок цей показник складав $46,3 \pm 10,5$, для чоловіків – $47,4 \pm 10,4$.

Гендерно-віковий розподіл пацієнтів обстежуваного контингенту згідно вікових груп, запропонованих Всесвітньою організацією охорони здоров'я, показав, що незалежно від статі пік захворюваності припадав на вікову групу 41–60 років. Жодного пацієнта віком до 20, або старше 70 років в дане дослідження включено не було через невідповідність критеріям відбору.

Всі клінічні маніпуляції проводилися після отримання письмової згоди пацієнтів.

Всім пацієнтам призначався основний діагностичний захід у вигляді езофагогастродуоденоскопії. Під час ініціального ендоскопічного дослідження виконували поліпозиційну експрес-біопсію (5–7 ділянок) для виключення ознак малігнізації виразки шлунка (атипові клітини, дисплазія, метаплазія) та біопсію для наступного детального гістологічного та морфометричного дослідження. Особлива увага зверталася на локалізацію та розміри виразкових дефектів.

Переважає більшість виразкових дефектів локалізувалася в тілі шлунку – 27 (54,0%). Локалізація виразки в антральному відділі була суттєво рідшою – 16 (32,0%). Виразка кута шлунку мала місце у 7 (14,0%) пацієнтів.

Незалежно від локалізації виразкового дефекту частота виникнення виразки була вищою у чоловіків ніж у жінок, або мала таку тенденцію.

Найбільша кількість виразок була локалізована на задній стінці – у 12 (24,0%), та малій кривизні тіла шлунку – 8 (16,0%) пацієнтів. Локалізація на задній стінці антрального відділу мала місце у 6 (12,0%) випадках. Решта локалізацій зустрічалися дещо рідше – в межах 6–8%. Жодна виразка субкардіального та кардіального відділів шлунку, а також пілоричного каналу в дослідження включена не була.

Щодо розмірів виразкового дефекту, то, як зазначалося раніше, в дане дослідження були включені пацієнти лише із виразками середніх (1–2 см) та великих (2–3 см) розмірів. В дослідженні переважали виразки середніх розмірів, які мали місце у 31 (62,0%) пацієнту. Виразкові дефекти великих розмірів були наявні у 19 (38,0%) пацієнтів.

Ми визначали 2 найбільші (поперечний та поздовжній) розміри в мм. Перемножуючи отримані показники між собою отримували площу виразкового дефекту в мм².

За обсягом отримуваного лікування пацієнти були розподілені на дві групи – дослідну групу (n=23 (46,0%)) та групу порівняння (n=27 (54,0%)).

Пацієнтам обох груп призначали медикаментозну противиразкову терапію у повному обсязі згідно “Уніфікованого клінічного протоколу первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги – Пептична виразка шлунку та дванадцятипалої кишки у дорослих” (Наказ Міністерства охорони здоров’я України №613 від 3 вересня 2014 року). В усіх випадках, при наявності підтвердженої інфекції *Helicobacter pylori*, призначалася ерадикаційна терапія.

Алгоритм діагностики та лікування виразки шлунку, а також схеми та варіанти медикаментозної терапії наведені в огляді літератури, а тому зупинятися на них ми не будемо.

Як було продемонстровано в експериментальній частині нашого дослідження, найкращий клінічний та морфологічний ефект ми спостерігали

при застосування плазми збагаченої тромбоцитами та комбінації її з даларгіном. Але необхідно зауважити, що достовірних відмінностей між застосуванням даних двох методик доведено не було. Крім того, використання будь-якого фармакологічного препарату завжди супроводжується ризиком розвитку побічних реакцій або індивідуальної непереносимості. Також слід зазначити, що використання додаткового фармакологічного засобу (даларгіну) в схемі лікування, тягне за собою додаткове фінансове навантаження на пацієнта.

Враховуючи всі ці фактори, нами було прийнято рішення, в клінічній частині дослідження застосовувати лише ін'єкційне введення плазми збагаченої тромбоцитами. Саме тому, пацієнтам дослідної групи медикаментозна противиразкова терапія доповнювалася однократною ендоскопічною ін'єкцією в периульцерозну зону плазми збагаченої тромбоцитами, з метою стимуляції локальних репаративних процесів.

Плазму збагачену тромбоцитами готували шляхом центрифугування гепаринізованих пробірок із кров'ю (8 мл) зі швидкістю 1500 об/хв. (приблизно 700g) протягом 8 хвилин, що давало на виході близько 4,5–5 мл плазми збагаченої тромбоцитами.

Із кожного шприца забирали 0,1 мл плазми збагаченої тромбоцитами та відправляли на гематологічне дослідження для підрахунку кількості тромбоцитів.

Ендоскопічні ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами виконувалися із використанням одноразових ін'єкційних пристроїв виробництва Olympus. Весь об'єм препарату вводився в периульцерозну зону в 5 рівновіддалених точках і розподілявся порівну між ними.

Контрольні ендоскопічні дослідження пацієнтам обох груп виконували на 7 та 14 добу, а пацієнтам із виразковими дефектами великих розмірів також і на 21 добу.

Під час контрольних ендоскопічних досліджень вимірювали розміри виразкових дефектів із підрахунком їх площі, а також виконували

поліпозиційну експрес-біопсію (5–7 ділянок) для виключення ознак малігнізації виразки шлунка (атипові клітини, дисплазія, метаплазія) та біопсію для наступного детального гістологічного та морфометричного дослідження.

Патоморфологічна оцінка біоптатів слизової оболонки шлунку пацієнтів проводилася аналогічно методиці, яка використовувалася в експериментальній частині дисертаційної роботи.

Розподіл пацієнтів у групах як за локалізацією, так і за розмірами суттєво не відрізнявся від аналогічних показників у всьому контингенті хворих, що було підтверджено статистично. Тобто, розподіл у групах був рівномірним.

Середні показники кількості тромбоцитів в зразках плазми збагаченої тромбоцитами становили $(500,9 \pm 52,9) \cdot 10^9$ /л, що практично в два рази перевищувало середні показники кількості тромбоцитів у дорослої людини. Отже, кількість тромбоцитів в 1 мл плазми збагаченої тромбоцитами становила $(500,9 \pm 52,9) \cdot 10^6$ /мл, а кожному пацієнту вводили $(2504,4 \pm 264,9) \cdot 10^6$ тромбоцитів.

При ініціальному ендоскопічному дослідженні всім пацієнтам було виконано поліпозиційну експрес-біопсію (5–7 ділянок) для виключення ознак малігнізації виразки шлунка (атипові клітини, дисплазія, метаплазія). У жодного із пацієнтів нашого дослідження малігнізація виявлена не була.

Як при ініціальному ендоскопічному дослідженні (1 доба), так і при всіх наступних (7 та 14 доба) ми вираховували та фіксували показники площі виразкових дефектів для оцінки процесу загоєння в динаміці (рис. 5.7).

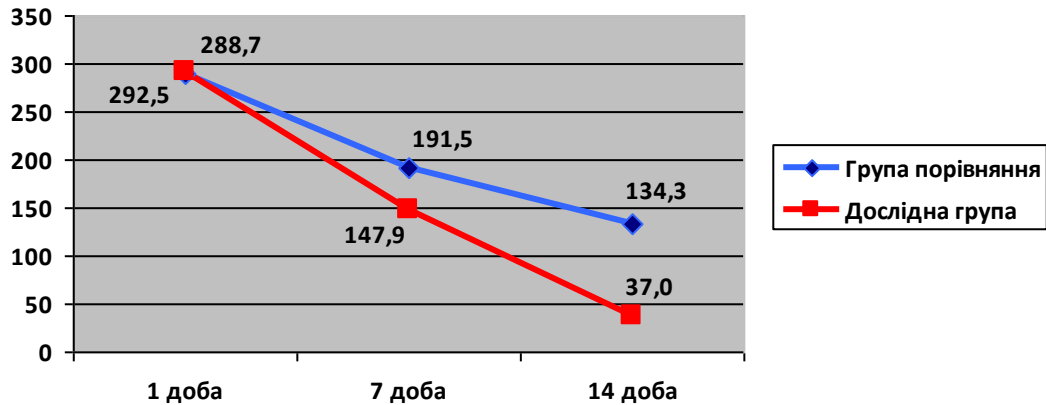


Рис. 5.7. Динаміка загоєння виразкових дефектів в обстежуваному контингенті.

Як у дослідній групі, так і в групі порівняння прослідковувалася тенденція до зменшення числових показників площі виразкових дефектів з часом.

Так, у групі порівняння на 7 добу відмічалось достовірне ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) зменшення площі виразок порівняно із 1 добою. На 14 добу цей показник також достовірно відрізнявся від показників, отриманих під час ініціального ендоскопічного дослідження ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента). В той же час, хоча чисельно площа виразкових дефектів на 14 добу була меншою за аналогічний показник на 7 добу, проте дана різниця не була статистично значимою ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

Слід зазначити, що у одного пацієнта на 7 добу мало місце незначне збільшення виразки, проте на 14 добу лікування, значення цього показника зменшилося нижче ініціального.

Схожа тенденція прослідковувалася і в дослідній групі, де локальні репаративні процеси підсилювалися введенням плазми збагаченої тромбоцитами. Так, площа виразок на 14 добу була значно меншою від площі на 1 та 7 добу. Проте, на відміну від групи порівняння достовірність була доведена для кожної пари показників. Тобто, прогресивне зменшення площі

виразкових дефектів протягом всього терміну спостереження мало достовірний характер ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Крім оцінки динаміки репаративного процесу всередині кожної групи, також ми порівнювали розміри виразкових дефектів в обох групах на кожному терміні дослідження. Так, якщо 1 добу дослідження жодних відмінностей ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) між показниками площі виразок в обох групах не було, то на 7 добу нами було помічено більш швидке, хоча й недостовірне ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) зменшення площі в дослідній групі. На 14 добу відмінності були ще більш вираженими, і на цей раз були достовірними ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Це свідчить про позитивний вплив плазми збагаченої тромбоцитами на швидкість загоєння виразкових дефектів стінки шлунку.

Повне загоєння виразок шлунку на стадії “червоного рубця” спостерігалось при ендоскопічному дослідженні лише на 14 добу. Всього у 19 пацієнтів нашого дослідження на 14 добу відбулася повна регенерація слизової оболонки шлунку. Щодо розподілу по групах, то в групі порівняння із 27 пацієнтів повне загоєння мало місце лише у 5 (18,5%) випадках. Натомість, в дослідній групі (23 пацієнти) цей показник складав 14 (60,9%) пацієнтів. При статистичній обробці отриманих даних виявилось, що дана різниця є достовірною ($p < 0,01$, χ^2 з поправкою Йетса на безперервність). Тобто, у дослідній групі кількість випадків повного відновлення слизової оболонки шлунку була достовірною вищою за аналогічний показник у групі порівняння.

Слід також зазначити, що абсолютно всі випадки повного загоєння виразкових дефектів припадали на частину пацієнтів із виразками середніх розмірів (1–2 см). Натомість, ні в групі порівняння, ні в дослідній групі, жодна виразка великих розмірів (2–3 см) не загоїлася повністю.

В зв'язку з цим нами було вирішено провести аналіз динаміки загоєння виразкових дефектів із урахуванням їх розмірів (рис. 5.8).

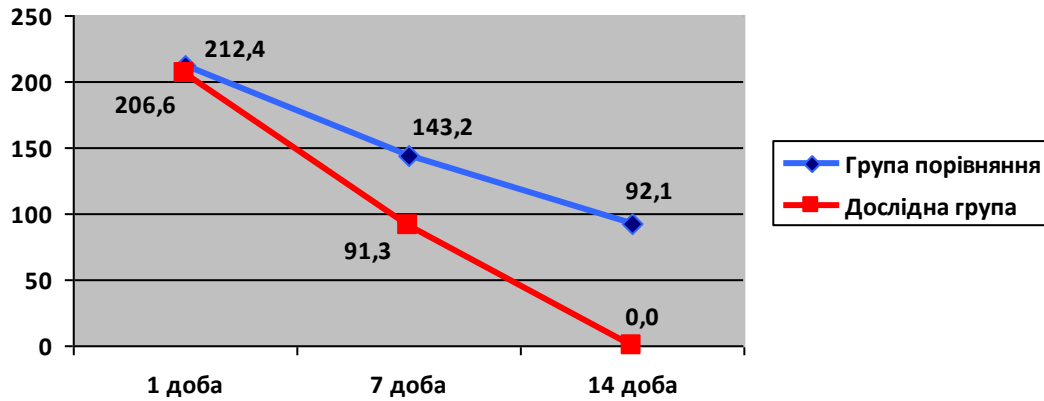


Рис. 5.8. Динаміка загоєння виразкових дефектів середніх розмірів.

При аналізі динаміки змін площі виразкових дефектів середніх розмірів, у обох групах прослідковується чітка тенденція до зменшення числових показників площі виразкових дефектів з часом, при чому ця тенденція є статистично достовірною.

Щодо дослідної групи, то тут слід зазначити, що прогресування репаративного процесу завершується 100% епітелізацією всіх виразкових дефектів.

Із 31 пацієнта з виразками середніх розмірів на 14 добу повної регенерації слизової оболонки шлунку вдалося досягти у 19 (61,3%) випадках, причому більша частина (14 пацієнтів) припадала на дослідну групу, де процеси репарації стимулювалися локальним введенням плазми збагаченої тромбоцитами. Також, слід зазначити, що ці 14 пацієнтів склали 100% дослідної групи. Натомість, у групі порівняння, пацієнти якої лікувалися за стандартними протоколами, із 17 пацієнтів повне загоєння виразки мало місце лише у 5 (29,4%) випадках.

При статистичній обробці отриманих даних виявилось, що дана різниця є достовірною ($p < 0,001$, точний двосторонній критерій Фішера). Тобто, загоєння виразкових дефектів середніх розмірів достовірно значно краще відбувалося при використанні біологічного стимулятора репарації – PRP.

Щодо спостереження за загосням виразкових дефектів великих розмірів, то його було продовжено до 21 доби.

Залежності в даному контингенті в загальних рисах демонструють залежності аналогічні до попередніх (рис. 5.9). Тобто, як у групі порівняння, так і в дослідній групі спостерігається зменшення площі виразкових дефектів починаючи з 7 доби.

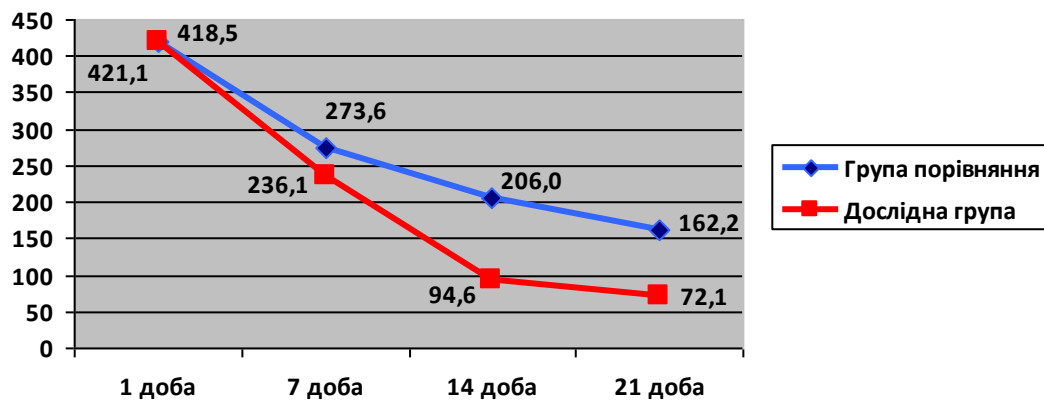


Рис. 5.9. Динаміка загосння виразкових дефектів великих розмірів.

У групі порівняння на 7 добу мало місце швидке достовірне ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) зменшення площі виразкових дефектів, порівняно із 1 добою. Проте, на 14 добу відмічалось певне гальмування репарації, яке спостерігалось і на 21 добу. Хоча ми спостерігали постійне зменшення площі виразок, проте достовірних відмінностей між 7 та 14, а також 14 та 21 добою не було ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

У дослідній групі на 7 та 14 добу спостерігалось достовірне зменшення площі виразкових дефектів ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента). На 21 добу показники площі достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) відрізнялися від аналогічних показників на 1 та 7 добу, проте різниця із 14 добою була недостовірною ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента).

Графічне зображення описаних залежностей щодо репарації виразкових дефектів великих розмірів наведено на рисунку 5.9.

При порівнянні динаміки репаративних процесів на кожному терміні було отримано наступні дані. На 1 добу дослідження жодні відмінності ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) між показниками площі виразок в обох групах нами не спостерігалися. На 7 добу було помічено незначне, проте, недостовірне ($p > 0,05$, t-критерій Ст'юдента) зменшення площі в дослідній групі. На 14 добу відмінності були ще більш вираженими, причому різниця була статистично підтверджена ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента). Аналогічно до 14 доби, на 21 добу мало місце достовірне переважання показників дослідної групи над показниками групи порівняння ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента).

Описана динаміка щодо загоєння виразок великих розмірів демонструє, що незважаючи на позитивну початкову динаміку, мало місце згасання процесів репарації в групі порівняння починаючи з 14 доби. Принаймні частково, це пояснюється виснаженням локальних репаративних можливостей стінки шлунку.

Натомість в дослідній групі спостерігалось стрімке прогресування відновлення цілісності слизової оболонки шлунку починаючи з 7 доби, і, яке продовжувалося до 14 доби, із наступним гальмуванням репаративних процесів. Такий характер динаміки загоєння пояснюється тим, що згідно літературних даних, середня тривалість життя тромбоцитів складає 7 діб, а максимальна – 10–12 діб. Виходячи з цього, можна припустити, що до 7 доби має місце максимальне локальне вивільнення факторів росту та диференціації із тромбоцитів ін'єктованих в підслизовий шар стінки шлунку. Крім того, дані літератури також свідчать, що максимальний ефект, зумовлений плазмою збагачено тромбоцитами проявляється протягом перших двох тижнів після аутотрансплантації. Цей факт пояснює згасання репаративних процесів ближче до 21 доби.

Так як в навіть на 21 добу у пацієнтів із виразковими дефектами великих розмірів повного загоєння нами не було досягнуто в жодному

випадку, доцільною може бути повторна локальна стимуляція процесів репарації.

Узагальнюючи результати вимірювання площі виразкових дефектів шлунку можна зробити наступні висновки:

1. При стандартній консервативній терапії хронічної виразки після 14 доби настає часткове згасання процесів репарації, що, принаймні частково, пояснюється виснаженням локальних репаративних можливостей стінки шлунку.
2. Однократна локальна стимуляція реparatorних процесів стінки шлунку шляхом ендоскопічної ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами дозволяє достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) прискорити процес епітелізації виразкових дефектів протягом 14 діб із наступним гальмуванням реparatorних процесів.
3. Однократна локальна стимуляція реparatorних процесів стінки шлунку шляхом ендоскопічної ін'єкції плазми збагаченої тромбоцитами дозволяє достовірно ($p < 0,01$, t-критерій Ст'юдента) зменшити площу виразкових дефектів великих розмірів та досягти 100% загоєння виразкових дефектів середніх розмірів.

В процесі регенерації виразкових дефектів слизової оболонки шлунку важливу роль відіграє не лише швидкість загоєння, а й ступінь відновлення структурних елементів стінки шлунку та їх функціональних можливостей, що в кінцевому випадку впливає на функціонування органа в цілому.

Саме тому наступним етапом нашого дослідження був ретельний аналіз морфологічних змін у слизовій оболонці шлунку пацієнтів в умовах стимуляції репаративних процесів, який показав тенденції аналогічні до експериментального дослідження.

Так, резюмуючи дані морфологічного та морфометричного дослідження біоптатів слизової оболонки шлунку ми дійшли наступних висновків:

1. Локальне введення плазми збагаченої тромбоцитами зменшує запальну відповідь та стимулює проліферацію шлункових епітеліоцитів на 7 добу із відновленням їх секреторної активності та епітелізацією виразок на 14 добу, а також активацією фібробластичної реакції упродовж всього терміну дослідження.
2. Плазма збагачена тромбоцитами створює умови для нормального перебігу реparatorних процесів хронічної виразки шлунку, забезпечуючи протинабряковий, протизапальний ефект (зниження щільності поліморфноядерних лейкоцитів в біоптатах на 27,9%) із активацією фібробластів (збільшення щільності на 54,7%) протягом 14 діб, що сприяє безрубцювому загоєнню виразки.

У всіх пацієнтів на 1, 7 та 14 добу, а у пацієнтів із виразковими дефектами великих розмірів також і на 21 добу визначали якість життя за даними опитувальника GSRS, а саме за питаннями 1 (біль або дискомфорт у верхніх відділах живота або в ділянці шлунку) та 4 (голодні болі), які характеризують абдомінальний больовий синдром.

Показники в межах 1–2 балів свідчать про нормальну якість життя.

Слід зазначити, що при ініціальному опитуванні середні показники інтенсивності абдомінального больового синдрому у пацієнтів групи порівняння складали $4,05 \pm 0,65$ балів, а у пацієнтів дослідної групи – $4,00 \pm 0,69$ балів. При цьому статистично достовірної різниці доведено не було ($p > 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні).

Для всього контингенту нашого дослідження даний показник становив $4,03 \pm 0,67$ балів достовірно ($p > 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні) не відрізнявся від показників інтенсивності больових відчуттів як у групі порівняння, так і у дослідній групі, що свідчить про рівномірний розподіл у групах.

У жодного із пацієнтів нашого дослідження сила больових відчуттів як по кожному із питань, так і середня, не перевищували 5 балів, тобто

максимальні больові відчуття проявлялися відносно сильним (проте терпимим) дискомфортом. Протягом всього дослідження у переважної більшості пацієнтів спостерігалася тенденція до зменшення больовий синдром, або відсутність динаміки.

Лише один пацієнт із дослідної групи при обстеженні на 7 добу скаржився на незначне збільшення больових відчуттів. При ендоскопічному дослідженні у даного пацієнта було виявлено збільшення площі виразкового дефекту малої кривизни антрального відділу шлунку, порівняно із ініціальним дослідженням. Проте, вже на 14 добу відмічалось як об'єктивне зменшення площі виразки, так і суб'єктивне зниження інтенсивності больового синдрому.

Щодо динаміки больових відчуттів то, як у дослідній групі, так і в групі порівняння прослідковувалася тенденція до достовірного зменшення ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні) числових показників інтенсивності синдрому абдомінального болю з часом (рис. 5.10).

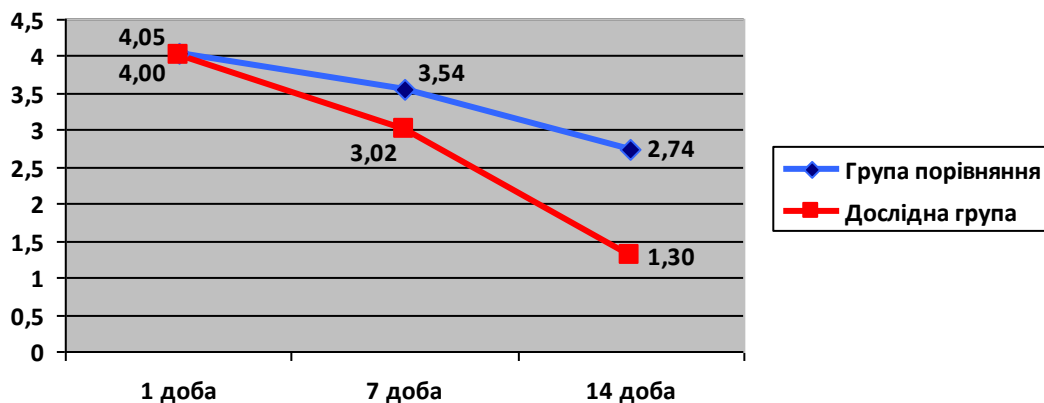


Рис. 5.10. Динаміка показники інтенсивності синдрому абдомінального болю за даними опитувальника GSRS в обстежуваному контингенті.

Крім оцінки динаміки інтенсивності больових відчуттів всередині кожної групи, також ми порівнювали даний показник в обох групах на кожному терміні дослідження. Так, якщо 1 добу дослідження жодних

відмінностей ($p > 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні) між показниками больового синдрому в обох групах не було, то на 7 добу нами було помічено достовірно більш швидке ($p < 0,05$, U-критерій Манна–Уїтні) зменшення больових відчуттів у дослідній групі. На 14 добу відмінності були ще більш вираженими та мали більшу достовірність ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні).

Також, слід зауважити, що в дослідній групі показник інтенсивності абдомінального больового синдрому складав $1,30 \pm 0,42$ балів, тобто знаходився в межах 1–2 балів, що свідчить про нормальну якість життя.

Отримані дані свідчать про позитивний вплив плазми збагаченої тромбоцитами на репаративні процеси у виразкових дефектах стінки шлунку, що проявляється зменшенням інтенсивності больових відчуттів у пацієнтів.

У групі порівняння інтенсивність абдомінального больового синдрому протягом дослідження (14 діб) зменшилася із $4,05 \pm 0,65$ балів до $2,74 \pm 1,03$ балів, що складає 32,3%.

У дослідній групі аналогічний показник зменшився із $4,00 \pm 0,69$ балів до $1,30 \pm 0,42$ балів, що складає 67,5%.

Як і при аналізі показників динаміки змін площі виразкових дефектів, нами було вирішено перевірити вплив розмірів виразки на інтенсивність больових відчуттів. При цьому, аналогічно до вимірювання площі виразкових дефектів, у пацієнтами із виразками великих розмірів визначення інтенсивності больових відчуттів проводили на 1, 7, 14 та 21 добу.

Виявилось, що динаміка зниження інтенсивності абдомінального больового синдрому не залежала від розмірів виразкових дефектів і в цілому повторювала описані вище залежності для всього обстежуваного контингенту.

Так, аналіз динаміки змін якості життя в обстеженому контингенті продемонстрував, що:

1. Незалежно від розмірів виразкового дефекту, медикаментозна противиразкова терапія дозволяє протягом 14 діб достовірно ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні) знизити інтенсивність абдомінального больового

синдрому на 32,3% без досягнення нормалізації якості життя у пацієнтів із хронічними виразками шлунку.

2. Незалежно від розмірів виразкового дефекту, однократне застосування плазми збагаченої тромбоцитами в комбінації з медикаментозною противиразковою терапією дозволяє протягом 14 діб достовірно ($p < 0,01$, U-критерій Манна–Уїтні) знизити інтенсивність абдомінального больового синдрому на 67,5% та нормалізувати якість життя у 100% пацієнтів із хронічними виразками шлунку.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення результатів клініко–експериментального дослідження з поєднаного застосування клітинних технологій та мініінвазивної хірургії в лікуванні хворих з приводу хронічної виразки шлунка, запропоноване нове практичне вирішення цього наукового завдання.

1. Застосування запропонованої модифікації моделі симетричного виразкового ураження шлунка не лише дозволило достовірно полегшити позиціонування ін'єкційної голки ($p < 0,05$ за точним двобічним критерієм Фішера), а й повністю виключити перфорації та спайкоутворення – ускладнення, що унеможлиблюють здійснення подальших маніпуляцій на передній стінці шлунка, притаманні стандартній методиці.
2. Локальне введення аутологічного очищеного ліпоаспірату та даларгіну як стимуляторів репаративних процесів, в експерименті не забезпечувало достатній протинабряковий та протизапальний ефект протягом 14 діб, проте, дозволяло достовірно зменшити площу та глибину виразкових дефектів ($p < 0,01$, t -критерій Ст'юдента) у порівнянні з такими при моделюванні ацетатної виразки без корекції репаративних процесів.
3. Локальне введення плазми, збагаченої тромбоцитами, та її поєднання з даларгіном забезпечує відновлення секреторної активності та епітелізацію виразкових дефектів відповідно у 71,4 та 85,7% експериментальних тварин, достовірно більше ($p < 0,01$, t -критерій Ст'юдента), ніж за відсутності корекції репаративних процесів та стимуляції репарації з використанням аутологічного очищеного ліпоаспірату або даларгіну.
4. При проведенні стандартної консервативної терапії хронічних виразок, що погано регенерують та мають великі розміри після 14-ї доби

відзначали часткове пригнічення репаративних процесів, що проявлялося недостовірним зменшенням площі виразкових дефектів через 14-ї та 21 добу з $(94,6 \pm 40,0)$ до $(72,1 \pm 23,6)$ мм², зумовленим виснаженням локальних репаративних можливостей стінки шлунка та відсутністю повного загоєння у 100% спостережень, що є прогностично поганою ознакою для успішного подальшого консервативного лікування.

5. Одноразове локальне введення плазми, збагаченої тромбоцитами створювало умови для стимуляції репаративних процесів у хронічній виразці шлунка, що погано регенерує, забезпечувало протинабряковий, протизапальний ефект (зменшення щільності поліморфноядерних лейкоцитів в біоптатах на 27,9%) з активацією фібробластів (збільшення щільності на 54,7%) протягом 14 діб, що сприяло повному безрубцевому загоєнню виразок середніх розмірів, зменшенню вираженості абдомінального больового синдрому на 67,5%, нормалізації якості життя ($p < 0,01$, U-критерій Манна – Уїтні).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Під час лікування пацієнтів з приводу хронічної виразки шлунка середніх та великих розмірів стандартну медикаментозну противиразкову терапію слід доповнювати локальним ендоскопічним введенням плазми, збагаченої тромбоцитами, для стимуляції репаративних процесів.
2. Перед виконанням маніпуляції обов'язково слід проводити поліпозиційну експрес-біопсію (5–7 ділянок) для виключення ознак малігнізації виразки шлунка (атипові клітини, дисплазія, метаплазія).
3. Приготування плазми, збагаченої тромбоцитами. Забирають 8 мл крові з ліктьової вени, вміщують у стерильну гепаринізовану скляну пробірку (вміст гепарину 14–20 ОД в 1 мл крові). Центрифугують зі швидкістю 700g протягом 8 хв, що дає на виході 4,5–5 мл плазми, збагаченої тромбоцитами. Верхній шар та до 2 мм верхньої частини нижнього шару після центрифугування відбирають в окремий стерильний шприц. Весь об'єм препарату вводять під час ендоскопічного дослідження в періульцерозну зону в 5 рівновіддалених точок, розподіляючи порівну.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Автандилов Г. Г. Основы патологоанатомической практики. Руководство (издание третье дополненное) / Г. Г. Автандилов – М. : Российская медицинская академия последипломного образования. – 2007. – 480 с.
2. Аскарлов М. Б. Трансплантация аутологичных клеток костного мозга для лечения длительно незаживающих язв желудка : дис. докт. мед. наук : 14.00.41 / Аскарлов М. Б. – Москва, 2009. – 201 с.
3. Аскорбиновая кислота и глюкоза в коррекции процессов свободнорадикального окисления (Экспериментальное исследование. Часть I) / [Л. Я. Тимен, А. Г. Шерцингер, Т. В. Чичук та ін.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2005. – №5. – С. 74–78.
4. Багненко С. Ф. Применение протоколов организации лечебно–диагностической помощи при язвенных кровотечениях в клинической практике / С. Ф. Багненко, Г. И. Синенченко, В. Г. Вербицкий. // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2006. – № 1. – С. 57.
5. Васильев Ю. В. Быстродействующие антацидные препараты в терапии кислотозависимых заболеваний / Ю. В. Васильев // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 21–24.
6. Вахрушев Я. М. Опыт применения иммунала в комплексном лечении больных язвенной болезнью с торпидным течением / Я. М. Вахрушев, А. Р. Балагатдинов. // Терапевтический архив. – 2010. – Т. 82, № 2. – С.13–17.
7. Вахрушев Я. М. Язвенная болезнь: особенности течения на соврем. этапе и прогноз на ближайшие годы / Я. М. Вахрушев, Л. И. Ефремова, В. А. Ефремова. // Терапевтический архив. – 2008. – Т. 80, № 2. – С. 26–29.

8. Верткин А. Л. Острые поражения слизистой оболочки верхних отделов желудочно–кишечного тракта в общемедицинской практике / А. Л. Верткин. // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 6–11.
9. Воронина Л. П. Язвенная болезнь в практике гериатра / Л. П. Воронина. // Медицинские новости. – 2008. – № 15. – С. 28–32.
10. Гирфанов И. Ф. Эндоскопическое применение натриевой соли ДНК в комплексном лечении гастродуоденальных язв : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.00.27 (ВАК РФ) “Хирургия” / Гирфанов И. Ф. – Уфа, 2008. – 20 с.
11. Жернакова Н. И. Клинико–эпидемиологические особенности течения язвенной болезни в различных возрастных группах / Н. И. Жернакова, Д. С. Медведев. // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – №10. – С. 10–12.
12. Зайцев С. В. Опыт работы главного гастроэнтеролога Ярославской области / С. В. Зайцев. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – Т. 15, № 1. – С. 68–70.
13. Ивашкин В.Т. Абдоминальная боль в практике врача–интерниста / В. Т. Ивашкин, Е. Л. Буеверова, О. М. Драпкина. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – Том 18, №2. – С. 59–64.
14. Иммунологические и патогенетические аспекты клинического применения имунофана при язве двенадцатиперстной кишки у лиц пожилого возраста / [И. В. Буторов, Ю. П. Осояну, С. И. Буторов и др.]. // Терапевтический архив. – 2007. – № 2. – С. 18–22.
15. Исламова Е. А. Возрастные особенности течения и диагностики язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / Е. А. Исламова. // Современные наукоемкие технологии. – 2008. – № 7. – С. 38.
16. Колесников Д. Б. Роль мелатонина в развитии психосоматических заболеваний / Д. Б. Колесников, Л. А. Вознесенская, С. И. Рапопорт. // Клиническая медицина. – 2010. – Т. 88., №1. – С. 5–9.

17. Лазебник Л. Б. Эпидемиология язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Л. Б. Лазебник. // Терапевтический архив. – 2007. – Т. 79, № 2. – С. 12–15.
18. Минушкин О. Н. Возраст и эрадикационное лечение язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / О. Н. Минушкин. // Терапевтический архив. – 2007. – Т. 79, № 2. – С. 22–26.
19. Патент № 2269161 РФ МПК А61К31/405 А61Р43/00 G09В23/28 (2001.01) Способ моделирования язвенного поражения желудка и кишечника / Зорькина А. В., Инчина В. И., Ямашкина Е. И.; заявник та патентовласник Государственное учреждение высшего профессионального образования “Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева”. – заявл. 08.04.2004; опубл. 27.01.2006.
20. Патент № 2288728 РФ МПК А61К35/16 А61Р1/04 А61Р 9/10 (2006.01) Способ терапии больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, сочетанной с ишемической болезнью сердца / Смолянинов А. Б., Бойко И. Н., Сидоренко В. А.; заявник та патентовласник Смолянинов А. Б., Бойко И. Н., Сидоренко В. А.. – № 2005104206/14; заявл. 02.16.2005; опубл. 12.10.2006.
21. Патент № 2322242 РФ МПК А61К 31/7072 А61Р 1/04 (2006.01) Способ эндоскопического лечения эрозивно–язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки у ангио–кардиохирургических больных / Лиходед В. А., Плечев В. В., Плечева Д. В., Султанаева З. В., Шикова Ю. В.; заявник та патентовласник Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию. – № 5003114/14; заявл. 03.05.2006; опубл. 20.04.2008.
22. Патент № 2362215 РФ МПК G09В23/28 (2006.01) Способ моделирования аутоиммунной язвы желудка у крыс / Шумаков В. И., Трубицына И. Е., Аскарлов М. Б., Крашенинников М. Е., Лазебник Л. Б., Онищенко Н. А., Дьяконова А. П.; заявник та патентовласник

Федеральное государственное учреждение Научно–исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи. – № 2007128125/14; заявл. 23.07.2007; опубл. 20.07.2009.

23. Патент № 2362215 РФ МПК G09B23/28 (2006.01) Способ моделирования аутоиммунной язвы желудка у крыс / Шумаков В. И., Трубицына И. Е., Аскарров М. Б., Крашенинников М. Е., Лазебник Л. Б., Онищенко Н. А., Дьяконова А. П.; заявник та патентовласник Федеральное государственное учреждение Научно–исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов Федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи. – № 2007128125/14; заявл. 23.07.2007; опубл. 20.07.2009.
24. Патент № 2383061 РФ МПК G09B23/28 (2006.01) Способ моделирования острой язвы желудка / Исмагилова А. Ф.; заявник та патентовласник Исмагилова А. Ф.. – № 2008144334/14; заявл. 10.11.2008; опубл. 10.11.2008.
25. Перфораційна гастродуоденальна виразка / укл. С. М. Чуклін, Я. Р. Дутка. // Львів, 2010. – 30с.
26. Петренко А. Ю. Стволовые клетки из жировой ткани / А. Ю. Петренко, Э. Н. Иванов, Ю. А. Петренко // Біотехнологія. – 2008. – №4. – С. 39–48.
27. Пиманов С. И. Динамика морфологических и функциональных характеристик слизистой оболочки желудка после эрадикации *Helicobacter pylori* у больных с язвами двенадцатиперстной кишки / С. И. Пиманов // Терапевтический архив. – 2006. – Т. 78, № 2. – С. 26–31.
28. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги – Пептична виразка шлунка та дванадцятипалої кишки у дорослих: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 03 вер. 2014 р. № 613.

29. Фомин П. Д. Кровотечения из верхних отделов желудочно–кишечного тракта: причины, факторы риска, диагностика, лечение / П. Д. Фомин, В. И. Никишаев. // Здоров'я України. – 2010. – №5. – С. 8–11.
30. Эндоскопический комбинированный гемостаз. Патогенетические механизмы лечебного воздействия при гастродуоденальных язвах, осложненных тяжелой кровопотерей и геморрагическим шоком / [Л. Я. Тимен, И. Е. Трубицына, Б. З. Чикунова та ін.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. – №2. – С. 40–42.
31. Эндоскопия. Базовый курс лекций: учебное пособие / [В. В. Хрячков, Ю. Н. Федосов, А. И. Давыдов та ін.]. – Москва: “ГЭОТАР–Медиа”, 2012. – 160 с.
32. A case of bleeding duodenal ulcer with pemphigus vulgaris during steroid therapy / [K. Niho, A. Nakasya, A. Ijichi та ін.] // Clin J Gastroenterol. – 2014. – №7. – С. 223–227.
33. A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use / [M. Kobayashi, T. Kawase, M. Horimizu та ін.] // Biologicals. – 2012. – №5. – С. 323–329.
34. Activation of toll–like receptor 2 promotes invasion by upregulating MMPs in glioma stem cells / [F. Wang, P. Zhang, L. Yang та ін.] // Am J Transl Res. – 2015. – №3. – С. 607–615.
35. Adipose tissue–derived stem cells as a therapeutic tool for cardiovascular disease / [E. Suzuki, D. Fujita, M. Takahashi та ін.] // World J Cardiol. – 2015. – №8. – С. 454–465.
36. Adipose–Derived Mesenchymal Stem Cells With Microfracture Versus Microfracture Alone: 2–Year Follow–up of a Prospective Randomized Trial / [Y. G. Koh, O. R. Kwon, Y. S. Kim та ін.] // Arthroscopy. – 2015. – №15. – С. 784–787.

37. Adipose-derived Stem Cell Conditioned Media Extends Survival time of a mouse model of Amyotrophic Lateral Sclerosis / [C. V. Fontanilla, H. Gu, Q. Liu та ін.] // *Sci Rep.* – 2015. – №5. – С. 169–173.
38. Alexander R. W. Autologous fat grafting: use of closed syringe microcannula system for enhanced autologous structural grafting / R. W. Alexander, D. B. Harrell. // *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology.* – 2013. – №6. – С. 91–102.
39. Ali T. Stress – Induced Ulcer Bleeding in Critically Ill Patients / T. Ali, R. F. Harty. // *Gastroenterology Clinics of North America.* – 2009. – №38. – С. 245–265.
40. Allen A. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin / A. Allen, G. Flemström. // *American Journal of Physiology – Cell Physiology.* – 2005. – №1. – С. 1–19.
41. Alleviation of streptozotocin-induced diabetes in nude mice by stem cells derived from human first trimester umbilical cord / [M. Cao, J. B. Zhang, D. D. Dong та ін.] // *Genet Mol Res.* – 2015. – №4. – С. 12505–12519.
42. Antioxidant and anti-inflammatory effects of intravenously injected adipose derived mesenchymal stem cells in dogs with acute spinal cord injury / Y. Kim, S. H. Jo, W. H. Kim, O. K. Kweon. // *Stem Cell Res Ther.* – 2015. – №6. – С. 229.
43. Application and Progress of Combined Mesenchymal Stem Cell Transplantation in the Treatment of Ischemic Cardiomyopathy / P. Hua, J. Y. Liu, J. Tao, S. R. Yang. // *Biomed Res Int.* – 2015. – №10. – С. 20–25.
44. Assessment Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a randomised comparison / [L. Laine, S. P. Curtis, B. Cryer та ін.] // *Lancet.* – 2007. – №9560. – С. 465–473.
45. Assessment of upper gastrointestinal safety of etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the Multinational Etoricoxib and Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a

- randomised comparison / [L. Laine, S. P. Curtis, B. Cryer та ін.] // *Lancet*. – 2007. – №9560. – С. 465–473.
46. Autologous adipocyte graft in endoscopic treatment of vesico–renal reflux in children: a preliminary study / [I. Lacreuse, R. Moog, V. Kadoch та ін.] // *Pediatric Reports*. – 2009. – №7. – С. 23–26.
47. Autologous Blood and Platelet Rich Plasma Injections in the Treatment of Achilles Tendinopathy: A Critically Appraised Topic / C. Sinnott, H. M. White, J. W. Cuchna, B. L. Van Lunen. // *J Sport Rehabil*. – 2015. – №10. – С. 20–25.
48. Autologous Mesenchymal Stem Cells Show More Benefit on Systolic Function Compared to Bone Marrow Mononuclear Cells in a Porcine Model of Chronic Myocardial Infarction / [T. I. van der Spoel, W. A. Gathier, S. Koudstaal та ін.] // *J Cardiovasc Transl Res*. – 2015. – №7. – С. 393–403.
49. Biecker E. Diagnosis and therapy of non–variceal upper gastrointestinal bleeding / E. Biecker. // *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. – 2015. – №6. – С. 172–182.
50. Calvino–Fernández M. H. pylori and mitochondrial changes in epithelial cells. The role of oxidative stress / M. Calvino–Fernández, T. Parra–Cid. // *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. – 2010. – №1. – С. 41–50.
51. Celecoxib versus naproxen and diclofenac in osteoarthritis patients: SUCCESS–I Study / [G. Singh, J. G. Fort, J. L. Goldstein та ін.] // *American Journal of Medicine*. – 2006. – №3. – С. 255–266.
52. Cells from the hematopoietic lineage are only present transiently during healing in a mouse model of non–severe burn injury / [S. Rea, A. Stevenson, N. L. Giles та ін.] // *Stem Cell Res Ther*. – 2015. – №6. – С. 134.
53. Changes of neural markers expression during late neurogenic differentiation of human adipose–derived stem cells / S. Razavi, Z. Khosravizadeh, H. Bahramian, M. Kazemi. // *Adv Biomed Res*. – 2015. – №4. – С. 209.

54. Characterization and comparison of 5 platelet-rich plasma preparations in a single-donor model / [J. Magalon, O. Bausset, N. Serratrice та ін.] // *Arthroscopy*. – 2014. – №5. – С. 629–638.
55. Characterization of a Murine Pressure Ulcer Model to Assess Efficacy of Adipose-derived Stromal Cells / [A. L. Strong, A. C. Bowles, C. P. MacCrimmon та ін.] // *Plast Reconstr Surg Glob Open*. – 2015. – №3. – С. 20–25.
56. Chiu P. W. Endoscopic Suturing for Ulcer Exclusion in Patients With Massively Bleeding Large Gastric Ulcer / P. W. Chiu, F. K. Chan, J. Y. Lau // *Gastroenterology*. – 2015. – №1. – С. 29–30.
57. Comparison between Endoscopic Therapy and Medical Therapy in Peptic Ulcer Patients with Adherent Clot: A Multicenter Prospective Observational Cohort Study / [S. H. Kim, J. T. Jung, J. G. Kwon та ін.] // *Korean J Gastroenterol*. – 2015. – №66. – С. 98–105.
58. Comparison between two different platelet-rich plasma preparations and control applied during anterior cruciate ligament reconstruction. Is there any evidence to support their use? / [A. A. Valentí, J. Lamo-Espinosa, B. J. D. Aquerreta та ін.] // *Injury*. – 2014. – №45. – С. 36–41.
59. Comparison on Endoscopic Hemoclip and Hemoclip Combination Therapy in Non-variceal Upper Gastrointestinal Bleeding Patients Based on Clinical Practice Data: Is There Difference between Prospective Cohort Study and Randomized Study? / [S. H. Lee, J. T. Jung, D. W. Lee та ін.] // *Korean J Gastroenterol*. – 2015. – №66. – С. 85–91.
60. Complications of peptic ulcer disease / T. Milosavljevic, M. Kostić-Milosavljević, I. Jovanović, M. Krstić. // *Dig Dis*. – 2011. – №5. – С. 491–493.
61. Cotran R. S. Gastric ulceration / R. S. Cotran, V. Kumar, S., L. Robbins // *Pathologic basis of disease*. – 2010. – №1. – С. 298–299.
62. Cover T. L. Helicobacter pylori in Health and Disease / T. L. Cover, M. J. Blaser. // *Gastroenterology*. – 2009. – №6. – С. 1863–1873.

63. Das K. Endoscopy outreach and upper gastrointestinal bleed / K. Das. // *Indian J Gastroenterol.* – 2014. – №33. – С. 478–479.
64. Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing / [K. Akhundov, G. Pietramaggiori, L. Waselle та ін.] // *Annals of Burns and Fire Disasters.* – 2012. – №4. – С. 20–25.
65. Dhurat R. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective / R. Dhurat, M. Sukesh. // *J Cutan Aesthet.* – 2014. – №4. – С. 189–197.
66. Diagnosis and management of nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline / [I. M. Gralnek, J. M. Dumonceau, E. J. Kuipers та ін.] // *Endoscopy.* – 2015. – №47. – С. 1–46.
67. Dimaline R. Attack and defence in the gastric epithelium – a delicate balance / R. Dimaline, A. Varro. // *Experimental Physiology.* – 2007. – №4. – С. 591–601.
68. Dissecting diabetes/metabolic disease mechanisms using pluripotent stem cells and genome editing tools / A. K. Teo, M. K. Gupta, A. Doria, R. N. Kulkarni. // *Mol Metab.* – 2015. – №9. – С. 593–604.
69. Doppler endoscopic probe as a guide to risk stratification and definitive hemostasis of peptic ulcer bleeding / [D. M. Jensen, G. V. Ohning, T. O. Kovacs та ін.] // *Gastrointest Endosc.* – 2015. – №15. – С. 8–9.
70. Dual action of prostaglandin E2 on gastric acid secretion through different EP receptor subtypes in the rat / S. Kato, E. Aihara, K. Yoshii, K. Takeuchi. // *American Journal of Physiology.* – 2005. – №1. – С. 64–69.
71. Effect of bone marrow mesenchymal stem cells on gastric ulcer repairing / [G. Wang, C. Li, X. Fan та ін.] // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* – 2015. – №29. – С. 889–892.

72. Effect of human Wharton's jelly mesenchymal stem cell paracrine signaling on keloid fibroblasts / [A. I. Arno, S. Amini–Nik, P. H. Blit та ін.] // *Stem Cells Transl Med.* – 2014. – №3. – С. 299–307.
73. Effect of local injection of mesenchymal stem cells on healing of sutured gastric perforation in an experimental model / [L. Liu, P. W. Chiu, P. K. Lam та ін.] // *Br J Surg.* – 2015. – №102. – С. 158–168.
74. Effect of platelet–rich plasma in alveolar distraction osteogenesis: a controlled clinical trial / [D. J. Menezes, J. A. Shibli, S. A. Gehrke та ін.] // *Br J Oral Maxillofac Surg.* – 2015. – №15. – С. 598–607.
75. Effect of probiotics and triple eradication therapy on the cyclooxygenase (COX)–2 expression, apoptosis, and functional gastric mucosal impairment in *Helicobacter pylori*–infected Mongolian gerbils / [T. Brzozowski, P. C. Konturek, M. Mierzwa та ін.] // *Helicobacter.* – 2006. – №1. – С. 10–20.
76. Effects of heterologous platelet–rich plasma gel on standardized dermal wound healing in rabbits / [K.G. Abegão, B.N. Bracale, I.G. Delfim та ін.]. // *Acta cirúrgica brasileira.* – 2015. – №3. – С. 209–215.
77. Effects of Intracoronary Administration of Autologous Adipose Tissue–Derived Stem Cells on Acute Myocardial Infarction in a Porcine Model / [H. W. Lee, H. C. Lee, J. H. Park та ін.] // *Yonsei Med J.* – 2015. – №6. – С. 1522–1529.
78. Efficacy of platelet rich fibrin in the reduction of the pain and swelling after impacted third molar surgery: Randomized multicenter split–mouth clinical trial / [O. Ozgul, F. Senses, N. Er та ін.] // *Head Face Med.* – 2015. – №11. – С. 37.
79. Endoscopic excavation for the treatment of small esophageal subepithelial tumors originating from the muscularis propria / [L. P. Ye, L. H. Zhu, X. B. Zhou та ін.] // *Hepatogastroenterology.* – 2015. – №62. – С. 65–68.
80. Endoscopic hemostasis for peptic ulcer bleeding: systematic review and meta–analyses of randomized controlled trials / [F. Baracat, E. Moura, W. Bernardo та ін.] // *Surg Endosc.* – 2015. – №20. – С. 20–25.

81. Endoscopic nasobiliary and nasopancreatic drainage contributing to healing of duodenal ulcer perforation: a case report / [K. Enokida, M. Kikuyama, T. Kurokami та ін.] // *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*. – 2015. – №112. – С. 1836–1842.
82. Establishment of maturity-onset diabetes of the young-induced pluripotent stem cells from a Japanese patient / [S. G. Yabe, N. Iwasaki, K. Yasuda та ін.] // *J Diabetes Investig*. – 2015. – №5. – С. 543–547.
83. Fat Grafting in Burn Scar Alleviates Neuropathic Pain via Anti-Inflammation Effect in Scar and Spinal Cord / [S. H. Huang, S.H. Wu, S. S. Lee та ін.] // *PLoS One*. – 2015. – №10. – С. 20–25.
84. Fibrin glue as a protective biomembrane for a duodenal ulcer vessel / [G. Germanidis, T. S. Papavramidis, K. Mantzoukis та ін.] // *Endoscopy*. – 2010. – №42. – С. 348–349.
85. Fibrin glue, healing of gastric mucosal injury, and expression of growth factors: results from a human in vivo study / [J. C. Becker, M. Beckbauer, W. Domschke та ін.] // *Gastrointest Endosc*. – 2005. – №4. – С. 560–567.
86. First-line endoscopic treatment with OTSC in patients with high-risk non-variceal upper gastrointestinal bleeding: preliminary experience in 40 cases / [M. Manno, S. Mangiafico, A. Caruso та ін.] // *Surg Endosc*. – 2015. – №23. – С. 20–25.
87. Formulation and Storage of Platelet-Rich Plasma Homemade Product / [O. Bausset, L. Giraud, J. Veran та ін.] // *BioResearch*. – 2012. – №3. – С. 20–25.
88. Gastrointestinal safety of cyclooxygenase-2 inhibitors: a Cochrane Collaboration Systematic Review / [A. Rostom, K. Muir, C. Dube та ін.] // *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. – 2007. – №7. – С. 818–828.
89. Gastroprotective activity of isopulegol on experimentally induced gastric lesions in mice: investigation of possible mechanisms of action / [M. I. Silva, B. A. Moura, M. R. Neto та ін.] // *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. – 2009. – №3. – С. 233–245.

90. Genetic evidence for a protective role of heat shock factor 1 against irritant–induced gastric lesions / [D. Tanaka, S. Tsutsumi, Y. Arai та іН.] // *Molecular Pharmacology*. – 2007. – №4. – С. 985–993.
91. Giant gastric ulcer penetrating into the pancreas / [S. Fujihara, H. Mori, N. Nishiyama та іН.] // *Arab J Gastroenterol*. – 2012. – №3. – С. 158–160.
92. Global burden of disease and injury and economic cost attributable to alcohol use and alcohol–use disorders / [J. Rehm, C. Mathers, S. Popova та іН.] // *Lancet*. – 2009. – №9682. – С. 2223–2233.
93. Gustafson J. "No acid, no ulcer"—100 years later: a review of the history of peptic ulcer disease / J. Gustafson, D. Welling. // *Journal of the American College of Surgeons*. – 2010. – №1. – С. 110–116.
94. Handa O. Helicobacter pylori: a ROS–inducing bacterial species in the stomach / O. Handa, Y. Naito, T. Yoshikawa // *Inflammation Research*. – 2010. – №12. – С. 997–1003.
95. Healing of skin wounds with a chitosan–gelatin sponge loaded with tannins and platelet–rich plasma / [B. Lu, T. Wang, Z. Li та іН.] // *Int J Biol Macromol*. – 2015. – №15. – С. 30104–30105.
96. Hepatic differentiation of rat induced pluripotent stem cells in vitro / [C. Sun, J. J. Hu, Q. Pan та іН.] // *World J Gastroenterol*. – 2015. – №21. – С. 11118–11126.
97. Holzer P. Role of visceral afferent neurons in mucosal inflammation and defense / P. Holzer. // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2007. – №6. – С. 563–569.
98. Hsu P. I. Epidemiology of Upper Gastrointestinal Damage Associated with Low–Dose Aspirin / P. I. Hsu, T. J. Tsai. // *Curr Pharm Des*. – 2015. – №21. – С. 5049–5055.
99. Hung C. Effect of lysozyme chloride on betel quid chewing aggravated gastric oxidative stress and hemorrhagic ulcer in diabetic rats / C. Hung. // *World Journal of Gastroenterology*. – 2005. – №37. – С. 5853–5858.

100. Immunomodulatory effects of mesenchymal stromal cells revisited in the context of inflammatory cardiomyopathy / K. Miteva, S. Van Linthout, H. D. Volk, C. Tschöpe. // *Stem Cells Int.* – 2013. – №10. – С. 20–25.
101. Immunosuppressive effects of mesenchymal stem cell transplantation in ratburn models / [J. Zhang, X. La, L. Fan та ін.] // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2015. – №5. – С. 5129–5136.
102. Impaired mucus–bicarbonate barrier in *Helicobacter pylori*–infected mice / [J. Henriksnäs, M. Phillipson, M. Storm та ін.] // *American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology.* – 2006. – №3. – С. 396–403.
103. Improvement of Short–Term Outcomes for High–Risk Bleeding Peptic Ulcers With Addition of Argon Plasma Coagulation Following Endoscopic Injection Therapy: A Randomized Controlled Trial / [H. M. Wang, W. L. Tsai, H. C. Yu та ін.] // *Medicine (Baltimore).* – 2015. – №94. – С. 13–43.
104. In vivo transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells accelerates repair of injured gastric mucosa in rats / [Q. Chang, L. Yan, C. Z. Wang та ін.] // *Chin Med J (Engl).* – 2012. – №125. – С. 1169–1174.
105. Increased susceptibility of ethanol–treated gastric mucosa to naproxen and its inhibition by DA–9601, an *Artemisia asiatica* extract / [T. Y. Oh, G. J. Ahn, S. M. Choi та ін.] // *World Journal of Gastroenterology.* – 2005. – №47. – С. 7450–7456.
106. Intralesional injection of adipose–derived stem cells reduces hypertrophic scarring in a rabbit ear model / [Q. Zhang, L. N. Liu, Q. Yong та ін.] // *Stem Cell Res Ther.* – 2015. – №6. – С. 145.
107. Intravenous Cardiac Stem Cell–Derived Exosomes Ameliorate Cardiac Dysfunction in Doxorubicin Induced Dilated Cardiomyopathy / [A. C. Vandergriff, J. B. de Andrade, J. Tang та ін.] // *Stem Cells Int.* – 2015. – №10. – С. 20–25.

108. Is Platelet–Rich Plasma a Future Therapy in Pain Management? / N. N. Knezevic, K. D. Candido, R. Desai, A. D. Kaye. // *Med Clin North Am.* – 2016. – №100. – C. 199–217.
109. Kane J. M. The Efficacy of Platelet–Rich Plasma for Incision Healing After Total Ankle Replacement Using the Agility Total Ankle Replacement System / J. M. Kane, J. A. Costanzo, S. M. Raikin. // *Foot Ankle Int.* – 2015. – №26. – C. 20–25.
110. Kazemi D. Leukocyte and Platelet Rich Plasma (L–PRP) Versus Leukocyte and Platelet Rich Fibrin (L–PRF) For Articular Cartilage Repair of the Knee: A Comparative Evaluation in an Animal Model / D. Kazemi, A. Fakhrjou. // *Iran Red Crescent Med J.* – 2015. – №17. – C. 20–25.
111. Kececi Y. A cost–effective method for obtaining standard platelet–rich plasma / Y. Kececi, S. Ozsu, O. Bilgir // *Wounds.* – 2014. – №8. – C. 232–238.
112. Kim H. U. Diagnostic and Treatment Approaches for Refractory Peptic Ulcers / H. U. Kim. // *Clin Endosc.* – 2015. – №48. – C. 285–290.
113. Konturek S. J. Prostaglandins and ulcer healing / S. J. Konturek, P. C. Konturek, T. Brzozowski // *Journal of Physiology and Pharmacology.* – 2005. – №5. – C. 5–31.
114. Kurien M. Acute upper gastrointestinal bleeding / M. Kurien, A. J. Lobo. // *Clin Med.* – 2015. – №15. – C. 481–485.
115. Laine L. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside / L. Laine, K. Takeuchi, A. Tarnawski // *Gastroenterology.* – 2008. – №1. – C. 41–60.
116. Lanas A. Low–dose aspirin and upper gastrointestinal damage: epidemiology, prevention and treatment / A. Lanas, J. Scheiman. // *Current Medical Research and Opinion.* – 2007. – №1. – C. 163–173.
117. Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non–steroidal anti–inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage /

- [C. Blandizzi, M. Fornai, R. Colucci та ін.]. // *World Journal of Gastroenterology*. – 2005. – №11. – С. 4052–4060.
118. Laparoscopic versus open operation for perforated peptic ulcer in pediatric patients: A 10–year experience / C. W. Wong, P. H. Chung, P. K. Tam, K. K. Wong. // *J Pediatr Surg*. – 2015. – №15. – С. 20–25.
119. Life–threatening Duodenal Ulcer Bleeding from a Ruptured Gastroduodenal Artery Aneurysm in a Patient with Neurofibromatosis Type 1 / [K. S. Im, S. Y. Kim, J. U. Lim та ін.] // *Korean J Gastroenterol*. – 2015. – №66. – С. 164–167.
120. Liver regeneration using decellularized splenic scaffold: a novel approach in tissue engineering / [J. X. Xiang, X. L. Zheng, R. Gao та ін.] // *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. – 2015. – №5. – С. 502–508.
121. Ma L. Proteinase–activated receptors 1 and 4 counterregulate endostatin and VEGF release from human platelets / L. Ma. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2005. – №1. – С. . 216–220.
122. Maiese K. Erythropoietin and diabetes mellitus / K. Maiese. // *World J Diabetes*. – 2015. – №6. – С. 1259–1273.
123. Makola D. Helicobacter pylori infection and related gastrointestinal diseases / D. Makola, D. A. Peura, S. E. Crowe // *Journal of Clinical Gastroenterology*. – 2007. – №6. – С. 548–558.
124. Management of apicomarginal defect in esthetic region associated with a tooth with anomalies / V. V. Meharwade, D. Y. Shah, P. P. Mali, V. V. Meharwade. // *Restor Dent Endod*. – 2015. – №40. – С. 314–321.
125. Management of knee osteoarthritis by combined stromal vascular fraction cell therapy, platelet–rich plasma, and musculoskeletal exercises: a case series / N. Gibbs, R. Diamond, E. O. Sekyere, W. D. Thomas. // *J Pain Res*. – 2015. – №8. – С. 799–806.
126. Marshall B. J. The relation of Helicobacter pylori to gastric adenocarcinoma and lymphoma: pathophysiology, epidemiology, screening, clinical

- presentation, treatment, and prevention / B. J. Marshall, H. M. Windsor. // *Medical Clinics of North America*. – 2005. – №2. – С. 313–344.
127. Massive Upper Gastrointestinal Bleeding from a Splenic Artery Pseudoaneurysm Caused by a Penetrating Gastric Ulcer: Case Report and Review of Literature / [M. Sawicki, W. Marlicz, N. Czapla та ін.] // *Pol J Radiol*. – 2015. – №80. – С. 384–387.
128. Mesenchymal stem cell therapy for doxorubicin cardiomyopathy: hopes and fears / [F. Ezquer, J. Gutiérrez, M. Ezquer та ін.] // *Stem Cell Res Ther*. – 2015. – №6. – С. 116.
129. Mesenchymal stem cell therapy for osteoarthritis: current perspectives / C. C. Wyles, M. T. Houdek, A. Behfar, R. J. Sierra. // *Stem Cells Cloning*. – 2015. – №8. – С. 117–124.
130. Mesenchymal stem cells play an important role in host protective immune responses against malaria by modulating regulatory T-cells / [R. S. Thakur, S. Tousif, V. Awasthi та ін.] // *Eur J Immunol*. – 2013. – №8. – С. 2070–2077.
131. Mesenchymal stromal cells for the treatment of critical limb ischemia: context and perspective / H. Gremmels, J. O. Fledderus, M. Teraa, M. C. Verhaar. // *Stem Cell Res Ther*. – 2013. – №6. – С. 140.
132. Methods of Liver Stem Cell Therapy in Rodents as Models of Human Liver Regeneration in Hepatic Failure / [N. Hashemi Goradel, M. Darabi, K. Shamsasenjan та ін.] // *Adv Pharm Bull*. – 2015. – №3. – С. 293–298.
133. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids / [K. W. McCracken, E. M. Cata, C. M. Crawford та ін.] // *Nature*. – 2014. – №516. – С. 400–404.
134. Napolitano L. Refractory peptic ulcer disease / L. Napolitano. // *Gastroenterol Clin North Am*. – 2009. – №2. – С. 267–288.
135. Natural killer cells for cancer immunotherapy: pluripotent stem cells derived NK cells as an immunotherapeutic perspective / [C. Eguizabal, O. Zenarruzabeitia, J. Monge та ін.] // *Front Immunol*. – 2014. – №5. – С. 439.

136. Nayeb–Hashemi H. Gastroduodenal mucosal defense / H. Nayeb–Hashemi, J. D. Kaunitz. // *Current Opinion in Gastroenterology*. – 2009. – №6. – С. 537–543.
137. Neovascularization capacity of mesenchymal stromal cells from critical limb ischemia patients is equivalent to healthy controls / [H. Gremmels, M. Teraa, P. H. Quax та ін.] // *Mol Ther*. – 2014. – №11. – С. 1960–1970.
138. Okabe S. An overview of acetic acid ulcer models – the history and state of the art of peptic ulcer research / S. Okabe, K. Amagase. // *Biol Pharm Bull*. – 2005. – №8. – С. 1321–1341.
139. Optimization of platelet–rich plasma and its effects on the recovery of erectile function after bilateral cavernous nerve injury in a rat model / [Y. N. Wu, C. C. Wu, M. T. Sheu та ін.] // *J Tissue Eng Regen Med*. – 2013. – №10. – С. 20–25.
140. Oryan A. Platelet–rich plasma for bone healing and regeneration / A. Oryan, S. Alidadi, A. Moshiri // *Expert Opin Biol Ther*. – 2015. – №11. – С. 20–25.
141. Overexpression of 70–kDa heat shock protein confers protection against monochloramine–induced gastric mucosal cell injury / [J. Oyaka, M. Otaka, T. Matsushashi та ін.] // *Life Sciences*. – 2006. – №3. – С. 300–305.
142. Peetsalu A. Methods of emergency surgery in high–risk stigmata peptic ulcer hemorrhage / A. Peetsalu, U. Kirsimägi, M. Peetsalu // *Minerva Chir*. – 2014. – №3. – С. 177–184.
143. Percutaneous injections of Platelet rich plasma for treatment of intrasubstance meniscal lesions / [F. Blanke, P. Vavken, M. Haenle та ін.] // *Muscles Ligaments Tendons J*. – 2015. – №5. – С. 162–166.
144. Perforated peptic ulcer / [K. Søreide, K. Thorsen, E. M. Harrison та ін.] // *Lancet*. – 2015. – №386. – С. 1288–1298.
145. Perforation of benign peptic ulcer in hiatal hernia into the pericardium, resulting in pneumopericardium / [D. Laski, M. Lukianski, M. Dubowik та ін.] // *Endoscopy*. – 2014. – №46. – С. 423.

146. Perini R. Roles of platelets and proteinase-activated receptors in gastric ulcer healing / R. Perini. // *Dig Dis Sci.* – 2005. – №1. – С. 12–15.
147. Periodontal regeneration using periodontal ligament stem cell transferred amnion / [K. Iwasaki, M. Komaki, N. Yokoyama та ін.] // *Tissue Eng Part A.* – 2014. – №20. – С. 693–704.
148. Platelet-rich preparations to improve healing. Part II: platelet activation and enrichment, leukocyte inclusion, and other selection criteria / [V. L. Davis, A. B. Abukabda, N. M. Radio та ін.] // *J Oral Implantol.* – 2014. – №4. – С. 511–521.
149. Platelet-Rich-Plasma Injections in Treating Lateral Epicondylitis: a Review of the Recent Evidence / [D. J. Murray, S. Javed, N. Jain та ін.] // *J Hand Microsurg.* – 2015. – №7. – С. 320–325.
150. Potential Role of Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) for Cell-Based Therapy of the Ocular Surface / [R. P. Casaroli-Marano, N. Nieto-Nicolau, E. M. Martínez-Conesa та ін.] // *J Clin Med.* – 2015. – №4. – С. 318–342.
151. Prediction of the indication criteria for endoscopic resection of early gastric cancer / [J. H. Park, S. H. Lee, J. M. Park та ін.] // *WJG.* – 2015. – №21. – С. 11160–11167.
152. Preparation and Application of an Innovative Thrombocyte/Leukocyte-Enriched Plasma to Promote Tissue Repair in Chelonians / [F. Di Ianni, E. Merli, F. Burtini та ін.] // *Plos one.* – 2015. – №10. – С. 20–25.
153. Prognostic factors in peptic ulcer perforations: a retrospective 14-year study / [M. Unver, Ö. Firat, Ö. V. Ünalp та ін.] // *Int Surg.* – 2015. – №5. – С. 942–948.
154. Protocol for obtaining platelet-rich plasma (PRP), platelet-poor plasma (PPP), and thrombin for autologous use / [D. Franco, T. Franco, A. M. Schettino та ін.] // *Aesthetic Plast Surg.* – 2012. – №5. – С. 1254–1259.
155. Proton pump inhibitors: do differences in pharmacokinetics translate into differences in clinical outcomes? / K. M. Fock, T. L. Ang, L. C. Bee, E. J. D. Lee. // *Clinical Pharmacokinetics.* – 2008. – №1. – С. 1–6.

156. Pucleanu X. Bleeding gastric cancer in young and elderly patients / X. Pucleanu, M. Beuran. // *Journal of Medicine and Life*. – 2015. – №3. – С. 356–360.
157. Ray–Offor E. Endoscopic Evaluation of Upper and Lower Gastro–Intestinal Bleeding / E. Ray–Offor, S. N. Elenwo. // *Niger J Surg*. – 2015. – №21. – С. 106–110.
158. Rigopoulos A. A critical Evaluation of Surgical Treatment of Perforated Ulcer / A. Rigopoulos, Ramboiu S., I. Georgescu. // *Current Health Sciences Journal*. – 2011. – №2. – С. 75–78.
159. Robotis J. Esophageal Perforation due to Transesophageal Echocardiogram: New Endoscopic Clip Treatment / J. Robotis, A. Karabinis. // *Case Rep Gastroenterol*. – 2014. – №8. – С. 235–239.
160. Rodriguez–Collazo E. R. Combined use of the Ilizarov method, concentrated bone marrow aspirate (cBMA), and platelet–rich plasma (PRP) to expedite healing of bimalleolar fractures / E. R. Rodriguez–Collazo, M. L. Urso. // *Strategies Trauma Limb Reconstr*. – 2015. – №24. – С. 20–25.
161. Role of adipose–derived stem cells in chronic cutaneous wound healing / [G. Caruana, N. Bertozzi, E. Boschi та ін.]. // *Annali italiani di chirurgia*. – 2015. – №1. – С. 1–4.
162. Root coverage using subepithelial connective tissue graft with platelet–rich plasma in the treatment of gingival recession: A clinical study / [B. V. Srinivas, N. Rupa, K. V. Halini Kumari та ін.] // *J Pharm Bioallied Sci*. – 2015. – №2. – С. 530–538.
163. Schubert M. L. Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease / M. L. Schubert, D. A. Peura. // *Gastroenterology*. – 2008. – №7. – С. 1842–1860.
164. Schubert M. L. Gastric secretion / M. L. Schubert. // *Current Opinion in Gastroenterology*. – 2008. – №6. – С. 659–664.
165. Stem cells: An eventual treatment option for heart diseases / [J. C. Bilgimol, S. Ragupathi, L. Vengadassalopathy та ін.] // *World J Stem Cells*. – 2015. – №7. – С. 1118–1126.

166. Surgical management and outcomes of patients with marginal ulcer after Roux–en–Y gastric bypass / [E. Chau, H. Youn, C. J. Ren–Fielding та ін.] // Surg Obes Relat Dis. – 2014. – №14. – С. 493–496.
167. Suspected malignant gastric lesion in hereditary tumor syndrome: Endoscopic resection or gastrectomy? / [M. Kathis, I. Gockel, P. Kaudel та ін.] // Chirurg. – 2013. – №7. – С. 594–597.
168. Szura M. Upper non–variceal gastrointestinal bleeding – review the effectiveness of endoscopic hemostasis methods / M. Szura, A. Pasternak. // World J Gastrointest Endosc. – 2015. – №7. – С. 1088–1095.
169. Tamama K. Acceleration of Wound Healing by Multiple Growth Factors and Cytokines Secreted from Multipotential Stromal Cells/Mesenchymal Stem Cells / K. Tamama, S. S. Kerpedjieva. // Adv Wound Care. – 2012. – №4. – С. 177–182.
170. Tarnawski A. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing / A. Tarnawski. // Dig Dis Sci. – 2005. – №1. – С. 24–33.
171. Tarnawski A. S. Angiogenesis in gastric mucosa: an important component of gastric erosion and ulcer healing and its impairment in aging / A. S. Tarnawski, A. Ahluwalia, M. K. Jones. // J Gastroenterol Hepatol. – 2014. – №4. – С. 112–123.
172. Tharp K. M. Bioengineering beige adipose tissue therapeutics / K. M. Tharp, A. Stahl. // Frontiers in Endocrinology. – 2015. – №6. – С. 1–9.
173. The effect of penile urethral fat graft application on urethral angiogenesis / [M. Cakmak, I. Yazıcı, O. Boybeyi та ін.]. // Journal of pediatric urology. – 2015. – №5. – С. 258.
174. The fate of systemically administrated allogeneic mesenchymal stem cells in mouse femoral fracture healing / [S. Huang, L. Xu, Y. Sun та ін.] // Stem Cell Res Ther. – 2015. – №6. – С. 206.
175. The Healing Effect of Adipose–Derived Mesenchymal Stem Cells in Full–thickness Femoral Articular Cartilage Defects of Rabbit / [D. Mehrabani, M.

- Babazadeh, N. Tanideh та іН.] // *Int J Organ Transplant Med.* – 2015. – №6. – С. 165–175.
176. The Relationship Between Left Ventricular Fractional Shortening and Intravenous Administration of Stem Cells in Laboratory Rabbits Presenting Chronic Myocardial Infarction / [I. C. Pop, O. Grad, E. Pall та іН.] // *Clujul Med.* – 2015. – №88. – С. 28–32.
177. The roles of mesenchymal stem cells in gastric lesion and regeneration: applications in gastric diseases / [Y. Gong, L. Song, C. Yang та іН.] // *Acta Gastroenterol Belg.* – 2013. – №76. – С. 10–14.
178. The use of platelet rich plasma in the treatment of immature tooth with periapical lesion: a case report / [G. Güven Polat, C. Yıldırım, O. M. Akgün та іН.] // *Restor Dent Endod.* – 2014. – №39. – С. 230–234.
179. The Use of Stem Cells in Burn Wound Healing: A Review / [F. Ghieh, R. Jurjus, A. Ibrahim та іН.] // *Biomed Res Int.* – 2015. – №10. – С. 20–25.
180. Therapeutic protocol using growth factors in electrocution wounds – case reports and review of the literature / [R. N. Teodoreanu, S. A. Popescu, I. Lascăr та іН.] // *Rom J Morphol Embryol.* – 2014. – №2. – С. 473–482.
181. Thoracoscopic pericardial drainage for gastric tube ulcer penetrated into the pericardium / [M. Watanabe, K. Matsuura, H. Baba та іН.] // *Fukuoka Igaku Zasshi.* – 2013. – №104. – С. 389–393.
182. Three–Dimensional Platelet–Rich Plasma Hydrogel Model to Study Early Tendon Healing / E. Rubio–Azpeitia, P. Sanchez, D. Delgado, I. Andia. // *Cells Tissues Organs.* – 2015. – №200. – С. 394–404.
183. Tissue engineering strategies for promoting vascularized bone regeneration / [S. Almubarak, H. Nethercott, M. Freeberg та іН.] // *Bone.* – 2015. – №15. – С. 412–413.
184. Transplantation of mesenchymal stem cells expressing TIMP–1–shRNA improves hepatic fibrosis in CCl₄–treated rats / Y. Zhu, Z. Miao, L. Gong, W. Chen. // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2015. – №8. – С. 8912–8920.

185. Treatment of pressure ulcers with autologous bone marrow nuclear cells in patients with spinal cord injury / [J. G. Sarasúa, S. P. López, M. A. Viejo та ін.] // J Spinal Cord Med. – 2011. – №34. – С. 301–307.
186. Tulassay Z. Gastric mucosal defense and cytoprotection / Z. Tulassay, L. Herszényi. // Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. – 2010. – №2. – С. 99–108.
187. Tuorkey M. J. Gastric Ulcer's Diseases Pathogenesis, Complications and Strategies for Prevention / M. J. Tuorkey, K. K. Abdul–Aziz. // Webmedcentral. – 2011. – №3. – С. 2–24.
188. Upper–gastrointestinal bleeding secondary to peptic ulcer disease: Incidence and outcomes / [S. Quan, A. Frolkis, K. Milne та ін.] // WJG. – 2014. – №20. – С. 17568–17577.
189. Usta S. Narrowing of giant gastric perforation by purse–string suture before omental plugging / S. Usta, C. Kayaalp, O. Gozeneli // Annals of Medicine and Surgery. – 2015. – №4. – С. 140–142.
190. Vagotomy/drainage is superior to local over sew in patients who require emergency surgery for bleeding peptic ulcers / [V. T. Schroder, T. N. Pappas, S. N. Vaslef та ін.] // Ann Surg. – 2014. – №259. – С. 1111–1118.

ДОДАТОК А

Карта реєстрації клінічних даних пацієнта № _____ (Зразок)

1. Паспортна частина.

П.І.П.: _____ Стать: жін. (1) чол. (2) Вік, років: _____

Відділення ВОКЛ, в якому лікувався пацієнт: хірургічне (1) ендоскопічне (2) № ІЗ: _____

Дати: Поступлення: . . 201 . . Випуски: . . 201 . . Смерті: . . 201 . .

Клінічний діагноз:Основний:

- Хронічна виразка кардіального або субкардіального відділу шлунка (1)
 тіла шлунка (2)
 кута шлунка (3)
 антрального відділу шлунка (4)
 пілоричного каналу шлунка (5)

Ускладнення:

- так (1) ні (2)

Супутній (клінічно значимий):

2. Клінічні дані.

Показник	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Ендоскопічне дослідження	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)
Експрес-біопсія	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)
Малігнізація за даними експрес-біопсії	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)
Біопсія з наступним морфологічним дослідженням	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)	<input type="checkbox"/> так (1) <input type="checkbox"/> ні (2)
Локалізація	Шлунок: Кардія та субкардія: <input type="checkbox"/> Передня стінка (1) <input type="checkbox"/> Задня стінка (2) <input type="checkbox"/> Мала кривизна (3) <input type="checkbox"/> Велика кривизна (4) Тіло: <input type="checkbox"/> Передня стінка (5) <input type="checkbox"/> Задня стінка (6) <input type="checkbox"/> Мала кривизна (7) <input type="checkbox"/> Велика кривизна (8) Кут: <input type="checkbox"/> Передня стінка (9) <input type="checkbox"/> Задня стінка (10) <input type="checkbox"/> Мала кривизна (11) <input type="checkbox"/> Велика кривизна (12) Антральний відділ: <input type="checkbox"/> Передня стінка (13) <input type="checkbox"/> Задня стінка (14) <input type="checkbox"/> Мала кривизна (15) <input type="checkbox"/> Велика кривизна (16) Пілоричний канал: <input type="checkbox"/> Передня стінка (17) <input type="checkbox"/> Задня стінка (18) <input type="checkbox"/> Верхня стінка (19) <input type="checkbox"/> Нижня стінка (20)			
Розміри виразкового дефекту (при ініціальному ендоскопічному дослідженні)	<input type="checkbox"/> середні – 1–2 см (1) <input type="checkbox"/> великі – 2–3 см (2)			
Розміри виразкового дефекту, мм				
Площа виразкового дефекту, мм ²				
Лікування	<input type="checkbox"/> консервативне (1) <input type="checkbox"/> консервативне + ендоскопічна ін'єкція плазми збагаченої тромбоцитами (2)			
Оцінка якості життя за даними опитувальника GSRS (Gastrointestinal Symptom Rating Scale) Шкала AP (Abdominal Pain) – Синдром абдомінального болю				
Питання 1, балів				
Питання 4, балів				
Середній показник, балів				

ДОДАТОК В

ШКАЛА ОЦІНКИ ШЛУНКОВО–КИШКОВИХ СИМПТОМІВ

Дана шкала містить перелік питань про Ваше самопочуття **ПРОТЯГОМ МИНУЛОГО ТИЖНЯ**.

Уважно ознайомтеся із запропонованими варіантами відповідей і виберіть найбільш підходящу, що відповідає Вашій конкретній ситуації. Поставте знак “X” навпроти пункту, що найбільш точно відображає Ваше самопочуття.

1. Чи турбували вас **БІЛЬ АБО ДИСКОМФОРТ У ВЕРХНІЙ ЧАСТИНІ ЖИВОТА АБО ДІЛЯНЦІ ВАШОГО ШЛУНКА** протягом минулого тижня?
 - Не турбували
 - Незначний дискомфорт
 - Помірний дискомфорт
 - Середній дискомфорт
 - Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - Сильний дискомфорт
 - Дуже сильний дискомфорт
2. Чи турбувала вас **ПЕЧІЯ** минулого тижня? (Під печією слід розуміти неприємне пекуче або жалюче відчуття в ділянці грудної клітки).
 - Не турбували
 - Незначний дискомфорт
 - Помірний дискомфорт
 - Середній дискомфорт
 - Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - Сильний дискомфорт
 - Дуже сильний дискомфорт
3. Чи турбував вас **КИСЛОТНИЙ РЕФЛЮКС** минулого тижня? (Під рефлюксом слід розуміти відчуття зригування невеликих кількостей кислоти або затікання кислої або гіркої рідини із шлунку в горло).
 - Не турбував
 - Незначний дискомфорт
 - Помірний дискомфорт
 - Середній дискомфорт
 - Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - Сильний дискомфорт
 - Дуже сильний дискомфорт

4. Чи турбували вас **ГОЛОДНІ БОЛІ** в животі минулого тижня? (Це відчуття порожнечі в шлунку, пов'язане із потребою перекусити між прийомами їжі).
- † Не турбували
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
5. Чи турбували вас **НАПАДИ НУДОТИ** минулого тижня? (Під нудотою слід розуміти неприємне відчуття, яке може привести до блювоти).
- † Не турбували
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
6. Чи турбувало вас **БУРЧАННЯ** в животі минулого тижня? (Під бурчанням слід розуміти “вібрацію” або неприємні звуки в животі).
- † Не турбувало
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
7. Чи турбувало вас **ЗДУТТЯ** живота минулого тижня? (Під здуттям слід розуміти відчуття наявності газів або повітря в животі, що часто супроводжується збільшенням живота в об'ємі).
- † Не турбувало
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
8. Чи турбувала вас **ВІДРИЖКА** минулого тижня? (Під відрижкою слід розуміти вихід повітря із шлунку через рот, що супроводжується послабленням відчуття здуття).
- † Не турбувало
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт

9. Чи турбував вас **МЕТЕОРИЗМ** минулого тижня? (Під метеоризмом слід розуміти звільнення кишечника від повітря чи газів, що часто супроводжується послабленням відчуття здуття).
- † Не турбував
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
10. Чи турбував вас **ЗАПОР** минулого тижня? (Під запором слід розуміти знижену здатність до спорожнення кишечника).
- † Не турбував
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
11. Чи турбувала вас **ДІАРЕЯ** минулого тижня? (Під діареєю слід розуміти занадто часте випорожнення кишечника).
- † Не турбувала
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
12. Чи турбував вас **РІДКИЙ СТІЛЕЦЬ** минулого тижня? (У разі чергування рідкого стільця та твердого стільця, відзначте ступінь дискомфорту при переважанні РІДКОГО СТІЛЬЦЯ).
- † Не турбував
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт
13. Чи турбував вас **ТВЕРДИЙ СТІЛЕЦЬ** минулого тижня? (У разі чергування рідкого стільця та твердого стільця, відзначте ступінь дискомфорту при переважанні ТВЕРДОГО СТІЛЬЦЯ).
- † Не турбував
 - † Незначний дискомфорт
 - † Помірний дискомфорт
 - † Середній дискомфорт
 - † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
 - † Сильний дискомфорт
 - † Дуже сильний дискомфорт

14. Чи були Ви стурбовані РАПТОВОЮ ПОТРЕБОЮ СПОРОЖНИТИ КИШЕЧНИК протягом минулого тижня? (Під цим слід розуміти термінову потреба йти до туалету при неможливості повністю контролювати ситуацію).

- † Не турбував
- † Незначний дискомфорт
- † Помірний дискомфорт
- † Середній дискомфорт
- † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
- † Сильний дискомфорт
- † Дуже сильний дискомфорт

15. Чи виникало у Вас ВІДЧУТТЯ НЕ ПОВНОГО СПОРОЖНЕННЯ КИШЕЧНИКА при відвідуванні туалету минулого тижня? (Це відчуття незавершеності дефекації (випорожнення) незважаючи на те, що Ви вже сходили в туалет).

- † Не турбували
- † Незначний дискомфорт
- † Помірний дискомфорт
- † Середній дискомфорт
- † Відносно сильний (але терпимий) дискомфорт
- † Сильний дискомфорт
- † Дуже сильний дискомфорт

ДЛЯ СЛУЖБОВОГО КОРИСТУВАННЯ

Структура локалізованого опитувальника GSRS

Шкала GSRS	DS	IS	CS	AP	RS
Номера питань	11, 12, 14	6, 7, 8, 9	10, 13, 15	1, 4	2, 3, 5

Шкали:

DS – діарейний синдром.

IS – диспепсичний синдром.

CS – констипаційний синдром (запор).

AP – синдром абдомінального болю.

RS – рефлюксний синдром.

У кожному питанні є сім варіантів відповіді, а отже, за кожену відповідь нараховується від 1 до 7 балів, потім вираховуємо середнє за шкалою, ось і весь ключ. Чим більше значення отримуємо, тим гірша якість життя. (Нормальна якість життя – 1–2 бали).

Значення пропущених питань можна замінювати середніми значеннями за шкалою, за умови, що отримано відповіді більше ніж на половину питань даної шкали.