

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ХІРУРГІЇ ТА
ТРАНСПЛАНТОЛОГІЇ імені О. О. ШАЛІМОВА»**

САВІН ВОЛОДИМИР ВАСИЛЬОВИЧ

УДК 616.13:617.58)-005.4-089:591.41:576.7

**КЛІТИННА СТИМУЛЯЦІЯ АНГІОГЕНЕЗУ В КОМПЛЕКСНОМУ
ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ІШЕМІЮ КІНЦІВОК**

14.01.03 «Хірургія»

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис

Роботу виконано в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України

Науковий керівник

доктор медичних наук, професор
Домбровський Дмитро Борисович,
Буковинський державний медичний
університет МОЗ України,
професор кафедри хірургії №1

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор
Нікульніков Павло Іванович,
Державна установа «Національний інститут
хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова»
НАМН України,
завідувач відділу хірургії магістральних судин

доктор медичних наук, професор
Прасол Віталій Олександрович,
Державна установа «Інститут загальної та
невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева»
НАМН України,
завідувач відділення гострих захворювань судин

Захист відбудеться «7» травня 2021 року о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.561.01 у Державній установі «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України за адресою: 03680, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Державної установи «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України за адресою: 03680, м. Київ, вул. Героїв Севастополя, 30.

Автореферат розісланий «5» квітня 2021 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор медичних наук



О. С. Тивончук

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Хронічні облітеруючі захворювання артерій нижніх кінцівок займають більше 20 % серед всіх уражень серцево-судинної системи (Никульников П. И., 2013; Кутовий О. Б., 2012; Гардубей Є. Ю., 2014; Корсак В. В., 2016). Смертність серед пацієнтів, які мають початкові клінічні прояви даної патології у вигляді переміжної кульгавості становить 3–5 % за рік, а при наявності критичної ішемії нижніх кінцівок смертність підвищується до 20 % за рік (Дунаевская С. С., Подрезенко Е. С, Никифорова А. А. та ін., 2015; Björck M. et al., 2020; Hinchliffe N. et al., 2020).

На сьогоднішній день актуальною та невирішеною залишається проблема лікування пацієнтів з оклюзійно-стенотичним ураженням артерій гомілки (дистального русла) (Прасол В. А., Мясоєдов К. В., Гилев Б. В., 2015; Никульников П. И., 2015). Оптимальним методом лікування хворих з хронічною ішемією нижніх кінцівок залишається адекватна реваскуляризація кінцівки – шунтуючі операції та ангіопластики (Dormandy J. A., Rutherford R. V., 2000).

Однак, результати хірургічної реваскуляризації на сьогоднішній день не можна визнати задовільними, адже відмічено чітку тенденцію до зростання кількості хворих із мультифокальним ураженням, із незадовільними дистальним руслом та кальцинозом артеріального русла. Прямі реконструкції в таких умовах можливо виконати лише в 49,5–58,0 % випадків. (Кузнецов М. Р., Евграфов А. И., Туркин П. А., 2002; Савельєв В. С., Кошкин В. М., Каралкин А. В., 2010; Русин В. І., Корсак В. В., Попович Я. М., Русин В. В., 2014). У першу чергу це стосується гомілкових сегментів, судинне русло яких не відповідає різко збільшеному об'єму крові, що надходить після проведеної прямої реваскуляризації (Пиптюк О. В., Сабадос Р. В., Пиптюк В. О., 2008; Гудз О. І., 2012; Поляков П. И., Горелик С. Г., Железнова Е. А., 2013).

Тому, коли можливості консервативного лікування вже вичерпані, а умови для виконання реконструктивних операцій на підколінно-гомілковому сегменті відсутні, для запобігання інвалідизації пацієнта, хірурги все частіше застосовують непрямі методи реваскуляризації, спрямовані на покращання колатерального кровообігу і збільшення об'єму мікроциркуляторного русла внаслідок стимуляції ангіогенезу (Прасол В. А., 2014; Русин В. І., Корсак В. В., Русин В. В. та ін., 2015).

Існують різноманітні методи непрямой реваскуляризації нижніх кінцівок, такі як остеотрепанация, фасціотомія, поперекова симпатектомія, пересадка шкірних клапотів на ніжці, аутотрансплантація чепця на судинній ніжці (Zeller Th., Sixt S., Schwarz Th. et al., 2006; Fernandez N., McEnaney R., Marone L. K. et al., 2010), трансплантація мультипотентних клітин жирової тканини, аутотрансплантація аспірата кісткового мозку та ін. (Heidrich H., Schmidt T., Fahrig C., 2005; Norgren L., Hiatt W. R., Dormandy J. A. et al., 2007).

Трансплантація клітин жирової тканини ускладнюється через тривалий та складний процес заготівлі й культивування (Andrews R. G., Singer J. W., Bernstein I. D., 1986; Stashower M., Smith K., Williams J. et al., 1999; Badorff C.,

Brandes R. P., Popp R. et al., 2003; Katz A. J., Tholpady A., Tholpady S. S., 2005; Петренко А. Ю., Петренко Ю. А., Скоробогатова Н. Г., 2008; Поляченко Ю. В., Дрюк М. Ф., Домбровський Д. Б., 2010), а використання клітин кісткового мозку обмежене в зв'язку з високою травматизацією при заборі трансплантата, низьким рівнем активності та диференціації дорослих мезенхімальних клітин (Papadaki H. A. et al., 2005; Dominici M., 2006; Ra J. C. et al., 2011).

Кордову кров розглядають як джерело стовбурових клітин на рівні з іншими джерелами: кістковим мозком, периферійною кров'ю, плацентою, жировою тканиною та ін. (Kern S., Eichler H., Eichler H., Stoeve J., 2006; Lu X., Alshemali S., Wynter E. A., Dickinson A. M., 2010; Sun T, Ma Q-H., 2013; Nabich A., 2013; Jaing T. H., 2014; Achyut B. R., Varma N. R. S., Arbab A. S., 2014). Проте, відсутні дані щодо можливості застосування клітинних технологій для лікування пацієнтів з дистальним ураженням артерій нижньої кінцівки, зумовлених облітеруючим атеросклерозом. У зв'язку з вищевикладеним, розробка нових методів реваскуляризації зі стимулюванням ангиогенезу та моделюванням капілярного русла у хворих з атеросклерозом при хронічній ішемії нижніх кінцівок на фоні дистального ураження артерій є актуальним напрямком, що дозволить зменшити відсоток інвалідизації.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась у рамках науково-дослідної роботи кафедри хірургії №1 Буковинського державного медичного університету МОЗ України за темами: «В експерименті та клініці визначити ефективність застосування клітинних трансплантатів аутологічного та аlogenного походження в лікуванні хворих на хронічні ішемічні стани» (номер державної реєстрації 0112U001146); «Особливості діагностики, прогнозування розвитку ускладнень та лікування деяких хірургічних захворювань органів черевної порожнини у хворих з генетично детермінованими предикторами їх несприятливого перебігу» (номер державної реєстрації 0116U002936).

Мета та завдання дослідження. Мета дисертаційної роботи – покращити результати лікування хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок шляхом клінічного застосування трансплантації клітин кордової крові.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Виявити пацієнтів із дистальним ураженням артерій, проблематичним для проведення прямої реваскуляризації та запропонувати методи їх лікування.

2. В експерименті із моделюванням ішемії дослідити вплив клітин кордової крові на процеси стимуляції ангиогенезу.

3. Враховуючи проведені експериментальні дослідження обґрунтувати використання в клінічній практиці методики трансплантації клітин кордової крові у хворих на хронічну ішемію кінцівок.

4. За допомогою інструментальних методів та на основі гістологічних і імуногістохімічних досліджень м'язової тканини кінцівки на різних етапах клітинної трансплантації оцінити стан регіонарної гемодинаміки та визначити

ефективність застосування клітин кордової крові у лікуванні хворих з хронічною ішемією нижніх кінцівок.

5. Провести аналіз ефективності застосування трансплантації клітин кордової крові шляхом оцінки якості життя пацієнтів з хронічною ішемією нижніх кінцівок.

Об'єкт дослідження – хронічна ішемія нижніх кінцівок.

Предмет дослідження – процеси ангіогенезу в ішемізованих кінцівках хворих при комплексному хірургічному лікуванні хронічної ішемії нижніх кінцівок із використанням трансплантації клітин кордової крові в експерименті та клініці.

Методи дослідження: експериментальні (гістологічні та імуногістохімічні дослідження біопсійного матеріалу, тест примусового плавання та визначення дистанції одномоментного пробігу тварин); загальноклінічні обстеження (опитування, аналіз скарг та анамнезу захворювання, послідовне об'єктивне обстеження), лабораторні (загальноклінічні, коагулограма, біохімічний аналіз крові); для визначення стану судинного русла кінцівки використані інструментальні (ультразвукова доплерографія, лазерна доплерівська флоуметрія, рентгенконтрастна ангіографія), морфологічні (гістологічні та імуногістохімічні дослідження біопсійного матеріалу); статистично-аналітичний метод.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше на експериментальній моделі ішемії кінцівок проведено вивчення впливу трансплантації клітин кордової крові на процеси ангіогенезу.

Вперше, науково обґрунтовано та розроблено методику лікування хворих з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок із використанням трансплантації клітин кордової крові (патент України на корисну модель №131176).

Вперше в експерименті доведено, що використання клітин кордової крові стимулює ангіогенез в ішемізованій кінцівці та сприяє відновленню її функціонального стану.

Вперше проведено аналіз методів інструментального дослідження (ультразвукової доплерографії, лазерної флоуметрії та рентгеноконтрастної ангіографії) для визначення стану мікроциркуляційного русла при застосуванні трансплантації клітин кордової крові.

Вперше продемонстровано, що застосування трансплантації клітин кордової крові в комплексному лікуванні хронічної ішемії нижніх кінцівок в клінічній практиці дозволяє покращити процеси мікроциркуляції, збільшити дистанцію безбольової ходьби та зменшити ступінь ішемії.

Практичне значення одержаних результатів. Наукові положення та висновки дисертаційної роботи адаптовані для впровадження та застосування в практичній медичній діяльності. Запропоновано методику проведення трансплантації клітин кордової крові та розроблено покази до її застосування хворим на хронічну ішемію кінцівок. На підставі проведених досліджень визначено, що трансплантація клітин кордової крові, при неможливості виконання реконструктивних операцій, стимулює ангіогенез і зменшує

ішемічні прояви у хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок. Позитивні результати лікування пацієнтів з хронічною ішемією нижніх кінцівок із використанням трансплантації клітин кордової крові дозволяють застосування цього методу в широкій клінічній практиці.

Наукові положення дисертації та рекомендації впроваджено у навчальний процес, лікувальну практику кафедр Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Ужгородського національного університету, відділення Державної установи «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України, профільних відділень лікарень Києва, Вінниці, Чернівців.

Особистий внесок здобувача. Внесок автора у дисертаційне дослідження є основним. Спільно з науковим керівником, сформулював мету і завдання дослідження, визначив актуальність теми, спланував і виконав наведені в дисертації дослідження. Здійснив інформаційний пошук, аналітичний огляд літератури. Всі експериментальні дослідження на лабораторних тваринах та подальше спостереження за ними виконані здобувачем самостійно в повному обсязі. Інтерпретував отримані гістологічних та імуногістохімічних даних експериментального та клінічного матеріалу. Особисто отримувач біопсійний матеріал на різних етапах лікування хворих на хронічну ішемію кінцівок, приймав участь у всіх оперативних втручаннях із застосуванням трансплантації клітинного матеріалу, провів аналіз отриманих даних, сформулював висновки та практичні рекомендації. Самостійно узагальнив результати роботи, обґрунтував методи лікування, підготував наукові матеріали до друку. Наведені в дисертації результати досліджень, їх аналіз та інтерпретація, а також ідеї, принципи наукові положення і висновки сформульовані автором. Самостійно проведено статистичну обробку даних із застосуванням комп'ютерних програм та узагальнення отриманих результатів. У наукових працях, опублікованих в співавторстві, використано фактичний матеріал досліджень автора.

Апробація результатів дисертації. Основні результати та положення дисертації було представлено на: XIX session of Balkan medical days and the second congress of emergency «Medicine of the republic of Moldova» (Moldova, 2013), Науково-практичній конференції «Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика» (м. Київ, 2013 р.); 95-й підсумковій конференції професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету, присвяченій 70-річчю (м. Чернівці, 2014 р.); XV конгресі Світової федерації Українських Лікарських Товариств (м. Чернівці, 2014 р.); V З'їзді судинних хірургів, флебологів та ангіологів України «Сухаревські читання. Діагностика і сучасні методи лікування гострих і хронічних захворювань судин» (м. Київ, 2017 р.), Конгресі асоціації судинних хірургів, флебологів та ангіологів України «Сухаревські читання – ангіологія та судинна хірургія сьогодні» (м. Київ, 2019 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукова праця, з яких 2 статті у науковому фаховому виданні України; 5 статей у наукових

фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних; 1 стаття у науковому виданні іншої держави, яка входить до Європейського Союзу; 6 статей у інших наукових виданнях України; 6 тез наукових доповідей, 1 патент на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 185 сторінках і складається з анотації, вступу, чотирьох розділів, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Основний текст містить 26 таблиць та 58 рисунків. Список цитованої літератури включає 244 джерел (з них 173 латиницею).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

ВИКОРИСТАННЯ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ У ХВОРИХ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ІШЕМІЄЮ КІНЦІВОК (огляд літератури)

Розглянуті питання лікуванні хворих із хронічною ішемією нижніх кінцівок, на тлі облітеруючого атеросклерозу та дисальним ураженням, що унеможлиблює виконання прямих реконструктивних операцій. Здійснено ретельний аналіз досліджень вітчизняних і зарубіжних авторів з питань наявних непрямих методів лікуванні хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок. Наведено обґрунтування вибору кожного з них, з описом всіх недоліків та переваг. Вони відрізняються залежно від патогенезу захворювання, механізму дії, швидкості настання ефекту та залишаються дискусійними.

Проаналізовані дослідження зарубіжних авторів з питань застосування стовбурових клітин кордової крові в лікуванні деяких нозологій. Висвітлено їх основні переваги, в порівнянні з іншими джерелами стовбурових клітин, та підкреслено, що умови і кінцевий результат диференціації в ендотеліальному напрямку відрізняється в окремих груп дослідників та потребує подальшого вивчення для можливого використання у хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дизайн дослідження містить дві частини: експериментальну та клінічну. В якості дослідних тварин використані 30 білих нелінійних щурів середньою масою $240,40 \pm 4,56$ г, віком $6,0 \pm 1,2$ місяців. Експериментальні втручання проводились під кетаміновим знеболенням з дотриманням умов асептики та антисептики. Експериментальні тварини були поділені на 2 групи: I група – тварини, у яких змодельована ішемія кінцівки; II група – тварини, яким на тлі ішемії кінцівки вводились клітини кордової крові. Моделювання ішемії задньої кінцівки щура проводилось за методом Т. А. Князевої у модифікації О. М. Горбатюка (1984). Для поглиблення ішемічних явищ в кінцівці одномоментно перев'язували стегову артерію, вену та нерв вище місця відходження *a. circumflexa femoris lateralis*. Перші прояви ішемічного стану фіксували на 2–3 добу після моделювання.

У якості трансплантату використано кріоконсервовану суспензію клітин кордової крові, яку отримували з банку пуповинної крові Товариства з обмеженою відповідальністю «Інститут клітинної терапії» при температурі $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Доза ведення клітинної суспензії становила $1,0 \pm 0,1$ мл одній тварині, в якому містилося 0,18 мл клітин кордової крові, 0,01 мл гепарину та 0,8 мл 0,9 % розчину NaCl. Клітинний трансплантат вводили в ішемізовані кінцівки на 3 добу моделювання ішемії підфасціально, тонкою смужкою на медіальній та латеральній поверхні стегна. Контрольній групі аналогічно вводили 0,9 % розчину NaCl 1 мл.

Тваринам обох експериментальних груп проводили дослідження функціональних параметрів з визначенням рухової активності та морфологічним дослідженням тканин зони ішемії. Після закінчення терміну експериментальних дослідів, виконання функціональних проб та забору біопсійного матеріалу всіх лабораторних тварини виводили з експерименту шляхом глибокого наркозування, відповідно Закону України № 3446-ІУ від 21.02.2006 року "Про захист тварин від жорстокого поводження".

З метою визначення ефективності використання клітин кордової крові під час експерименту та на клінічному етапі були проведені гістологічні та імуногістохімічні дослідження отриманих біоптатів м'язової тканини ураженої кінцівки. Візуалізацію та оцінювання результатів проводили за допомогою мікроскопа Delto Optical Evolution 100 (РП) з об'єктивом 10^{\times} (планохромт) та окуляром 10^{\times} . За допомогою цифрової фотокамери Olympus SP-550UZ оптичні зображення з мікроскопа переводили в цифрові. Для дослідження зрілості сполучнотканинних волокон та чіткого оптичного орієнтування у структурах тканин було застосовано забарвлення "хромотропом 2В" – "водним блакитним" за методикою Н. З. Слінченко (1964).

Визначали експресію антигенів до фактору Віллебранда та віментину імуногістохімічним методом, оскільки вищезазначені фактори є характерними показниками процесів новоутворення судин. Імуногістохімічне дослідження проводили за протоколами, рекомендованими виробником реактивів "ДАКО", за допомогою наборів реактивів на основі полімерної системи детекції з пероксидажною міткою та візуалізацією за допомогою діамінобензодину із використанням системи "UltraVision Quanto Detection System HRP Діамінобензидином – DAB Chromogen" (Thermo Fisher Scientific). Дофарбовували гематоксиліном Масра. Інтенсивність забарвлення ендотеліоцитів в судинах мікроциркуляторного русла та окремих скупчень фібробластів обраховували в одиницях відносної оптичної густини. Після порівняння результатів у групах дослідження встановлювали значення, яке найкраще вказувало на відмінність між групами дослідження. Для проведення клінічної частини дослідження брали участь 46 пацієнтів з проявами хронічної ішемії нижніх кінцівок на тлі облітеруючого атеросклерозу, які перебували на стаціонарному лікуванні у відділенні хірургії судин Чернівецької обласної клінічної лікарні. Ступінь, локалізацію та розповсюдженість ураження артеріального русла нижніх кінцівок визначали на основі аналізу результатів ультразвукової доплерографії та рентгенконтрастної ангіографії.

Після обстеження у 22 пацієнтів констатовано наявність локальних ділянок оклюзії артерій нижніх кінцівок та задовільне дистальне русло, що було показом до виконання прямих оперативних втручань. Даним хворим виконано прямі реконструктивні операції. В подальшому клінічному дослідженні брали участь 24 пацієнта з облітеруючим атеросклерозом та дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. До проведення лікування обов'язковим було отримання «Інформованої згоди пацієнта», підписаної хворим.

Основну клінічну групу склали 13 пацієнтів з проявами хронічної ішемії нижніх кінцівок на тлі облітеруючого атеросклерозу, з них 10 чоловіків ($76,9 \pm 11,7$ %) та 3 жінки ($23,1 \pm 11,7$ %). До групи контролю увійшли 11 пацієнтів (9 чоловіків та 2 жінки) з облітеруючим атеросклерозом та дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. В обох групах констатовано неможливість виконання реконструктивних операцій на судинах нижніх кінцівок у зв'язку з можливістю розвитку ранніх післяопераційних ускладнень.

Групи були однорідними за статтю ($p=0,37$). Основну групу формували пацієнти з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок, у яких немає показів до виконання прямих реконструктивних оперативних втручань (що підтверджувалось рентгенконтрастною ангіографією), болями в стані спокою – категорія 4 по Rutherford (III ступень ішемії по Fontaine) та обмеженими некрозами тканин – категорія 5 по Rutherford (IV ступень по Fontaine), при умові відсутності онкопатології в анамнезі та негативних тестах на онкомаркери.

Більшості хворих основної групи в анамнезі проводили прямі оперативні втручання які в подальшому не призвели до відновлення магістрального кровотоку гомілки.

До групи середнього віку (45–59 років) належало $69,2 \pm 12,8$ % пацієнтів, похилого віку (60–74 роки) – $30,8 \pm 12,8$ % пацієнтів основної групи; у групі контролю пацієнти середнього віку становили $45,5 \pm 4,53$ %, похилого віку – $54,5 \pm 4,53$ %. Середній вік пацієнтів основної групи складав $55,8 \pm 4,7$ роки, групи контролю – $62,3 \pm 5,1$ роки. Групи були однорідними за віком ($p=0,17$).

Критеріями виключення з основної групи були пацієнти які мали покази до прямих реконструктивних операцій. Також виключались пацієнти з поширеними некрозами нижніх кінцівок – категорія 6 по Rutherford (IV ступень по Fontaine), хворі з цукровим діабетом, з обтяженим онкологічним анамнезом або позитивних онкомаркерах, що включало для чоловіків ПСА загальний, α -фетопротеїн, раково-ембріональний антиген, онкомаркери підшлункової залози, жовчного міхура, шлунку, шлунково-кишкового тракту та для жінок раково-ембріональний антиген, тиреоглобулін, онкомаркер яєчників, молочної залози, підшлункової залози, жовчного міхура, шлунку, шлунково-кишкового тракту.

Наявність дистального ураження в обох групах підтверджувалось даними ультразвукової доплерографії, лазерною доплерівською флоуметрією, рентгенконтрастною ангіографією. Хворі основної та контрольної групи були схожими за наявністю клінічних симптомів, отримували консервативну терапію терміном 10–14 діб, що включало введення стандартних доз спазмолітиків,

периферичних вазодилататорів та препарати L-аргініну. Пацієнти отримували антиагрегантну терапію, анальгетики, кратність та форма прийому яких варіювала.

В основній групі в якості трансплатату використовували кріоконсервовану суспензію клітин кордової крові, отриману з банку пуповинної крові Товариства з обмеженою відповідальністю «Інститут клітинної терапії». Дозу (4–6 кріоампул по 1,5 мл) розводили в 40 мл 0,9 % розчину NaCl з 0,5 мл гепарину.

Після спинномозкового (або епідурального) знеболення, клітинний трансплантат вводили в ішемізовану м'язову тканину у верхній третині гомілки по медіальній та латеральній поверхні (патент України на корисну модель №131176). Загальна кількість введеної суспензії, що містила стовбурові клітини кордової крові, в одну ішемізовану кінцівку становила 50 ± 5 мл (вміст ядровмісних клітин – від 47×10^6 до 356×10^6 , життєздатність клітин – $\geq 87 \pm 5$ % від початкової).

Після проведення консервативного лікування в обох групах та трансплантації клітин кордової крові в основній групі використовували уніфікований опитувальник Walking Impairment Questionnaire (WIQ) в якості специфічного опитувальника для пацієнтів з переміжною кульгавістю. Він складається з двох таблиць, проаналізувавши дані яких, ми визначали дистанцію безболісної ходьби та можливу швидкість ходьби у пацієнтів з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. За допомогою крокоміру OMRON (OMRON) HJ-005-E визначали кількість пройдених кроків. Використовуючи опитувальник хворий відповідав на стандартні запитання для визначення відстані безбольової ходьби, тобто появу переміжної кульгавості, та для визначення можливої швидкості ходьби, що характеризує функціональний стан кінцівок. Після проведення опитування сума балів по визначенню дистанції та швидкості проходження відстані складалась. Максимальна кількість балів складала 33 бали, мінімальна – 11 балів. Дослідження проводились через 3, 6 та 12 місяців після трансплантації.

Оцінку якості життя здійснювали за опитувальником Quality of Life Index, при первинному зверненні та через шість місяців після проведення клітинної трансплантації. Максимально “хороша” якість життя оцінювалася в 2 бали, середня якість – в 1 бал, максимально “погана” – в 0 балів. Максимальна кількість балів, що міг набрати пацієнт складала 10 балів, мінімальна – 0 балів.

Статистичну обробку отриманих результатів дослідження проводили за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel та програми для статистичного «BioStat».

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

ТРАНСПЛАНТАЦІЯ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Для проведення експериментального дослідження було вивчено вплив трансплантації клітин кордової крові на процеси ангиогенезу у тварин із змодельованою ішемією кінцівки за допомогою гістологічних та

імуногістохімічних методів дослідження, а також проведенні проб з фізичним навантаженням.

При гістологічному дослідженні в обох групах експериментальних тварин на 1–3 добу ішемії спостерігали розлади кровообігу. На 3 добу експерименту у тварин I групи виражене вогнищеве повнокров'я і стаз еритроцитів у судинах. Наявний нерівномірний набряк, при цьому частина ендотеліоцитів некротизована та злуцена. М'язові волокна втратили посмугованість. На 7–14 добу експерименту в тварин I групи деструктивні зміни морфоструктури м'язової тканини посилювались. Прогресує наростання деструктивних процесів в м'язових волокнах з наявністю вогнищ некрозу, ліпідної дистрофії, вакуолізації та набряку, на тлі останнього мають місце вогнища крововиливів та поодинокі мультипотентні клітини. На 21–25 добу експерименту поступово зменшувались розлади кровообігу (повнокров'я та стаз крові) в судинах м'язової тканини. З'являються фібропластичні зміни стінки судин, а також потовщення та фіброз стінки артеріол і периваскулярне збільшення сполучної тканини. В той же час у тварин II групи на 1–2 добу після трансплантації стовбурових клітин кордової крові (4–6 доба ішемії), мали місце мозаїчні зміни м'ясим'ясту, які відповідали тканинним характеристикам тварин I групи. На 5 добу в біоптатах з'являються молоді ендотеліоцитоподібні клітини. На 10–14 добу ендотеліальні клітини густо заселяють інтерстицій, відмічається збільшення числа фіброblastів. На 21–25 доби виявлені вогнища ангиогенезу і регенерації, відмічено грануляційну тканину на етапі дозрівання у рубець із великою кількістю переважно фіброblastів та судин, в яких здійснюється кровотік.

При імуногістохімічному дослідженні у I групі тварин експресія фактору Віллебранда в ендотеліальних структурах судин, особливо виражена в повнокровних судинах, в ендомізії та перимізії на 2 і 7 добу ішемії, що свідчить про активацію первинного тромбоцитарно-судинного гемостазу, а пік імуногістохімічної реакції на віментин відмічено на 10–14 добу змодельованої ішемії. У II групі дослідних тварин починаючи з 5, особливо з 10–14 доби після введення клітин кордової крові в ішемізовану кінцівку, ознаки характерні для гіпоксії поступово зникали. Інтерстицій густо заселений віментин-позитивними мультипотентними клітинами. Спостерігали наявність макрофагів та формування первинних судинних структур. На 21 добу визначались осередки ангиогенезу і регенерації з множинними дрібними судинами, розташованими в сполучнотканинних і фіброзних вогнищах. Виявлено зрілі віментин-позитивні ендотеліоцити кровоносних судин, як показник стимульованого ангиогенезу.

Спостереження за тваринами II групи показали збільшення дистанції пробігу вже на 7 добу після введення клітин кордової крові в порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$). Після проведення аналізу тесту примусового плавання відмічається суттєве збільшився часу примусового плавання в дослідній групі вже на 14 добу після введення клітин кордової крові, тоді як в групі контролю показники змінювались несуттєво ($p < 0,05$).

КЛІНІЧНА КАРТИНА У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ІШЕМІЮ НИЖНІХ КІНЦІВОК ПІСЛЯ КЛІТИННОЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ

В основній групі в якості трансплатату використовували кріоконсервовану суспензію клітин кордової крові, Дозу (4–6 кріоампул по 1,5 мл) розводили в 40 мл 0,9 % розчину NaCl з 0,5 мл гепарину.

Після спинномозкового (або епідурального) знеболення, клітинний трансплантат вводили в ішемізовану м'язову тканину у верхній третині гомілки по медіальній та латеральній поверхні. Загальна кількість введеної суспензії, що містила стовбурові клітини кордової крові, в одну ішемізовану кінцівку становила 50 ± 5 мл (вміст ядровмісних клітин – від 47×10^6 до 356×10^6 , життєздатність клітин – $\geq 87 \pm 5$ % від початкової).

Після проведення клітинної трансплантації виконувалась біопсія м'язової тканини з подальшим гістологічним дослідженням за методом Н.З. Слінченко та імуногістохімічним дослідженням з визначенням експресії віментину та фактору Віллебранда.

Під час клінічного дослідження при гістологічному обстеженні біоптатів м'язової тканини у пацієнтів з хронічною ішемією нижніх кінцівок основної групи через 1 місяць після трансплантації клітин кордової крові, відмічено мозаїчні зміни структури тканин. На фоні набряку в біоптатах м'язової тканини мають місце скупчення молодих ендотеліоцитів та фібробластів, поодинокі новоутворені капіляри з ознаками функціонування – заповнені форменими елементами крові. На 3 місяць після клітинної трансплантації процеси регенерації м'язової тканини та формування новоутворених капілярів яскравіше виражені, ніж в попередній термін дослідження. Крім того, відмічено значне збільшення зон регенерації та новоутворених капілярів, які утворювали добре виражену і розгалужену судинну мережу, де здійснюється кровотік. У зразках м'язової тканини на шостий місяць після трансплантації стовбурових клітин кордової крові, виявляли багаточисельні вогнища регенерації, появу поперечної посмугованості м'язових волокон та зменшення ознак дистрофії. Через 12 місяців після клітинної трансплантації відмічено триваючу регенерацію м'ясимпласту та процеси васкуло-ангіогенезу, однак ступінь їх проявів дещо менша в порівнянні з попередніми термінами, тобто, має місце поступова стабілізація регенераторної реакції та процесу компенсаторного ангіогенезу. В м'ясимпласті зустрічались лише поодинокі нерівномірно розташовані набряково-дистрофічні вогнища, а новоутворені капіляри формували активно функціонуючу судинну мережу.

Імуногістохімічна реакція на фактор Віллебранда, який експресувався в ендотеліальних структурах судин, особливо була виражена вже через 1 місяць після трансплантації клітин кордової крові в ендомізії та перимізії. Наявність репаративно-відновного процесу та ангіогенезу в ендомізії через 6 місяців після трансплантації підтверджується експресією мезенхімального фактору віментину, а в перимізії – активною експресією фактору Віллебранда. Через 12 місяців після клітинної трансплантації імуногістохімічний аналіз вказував на зниження експресії мезенхімального фактору віментину (проявлялось у вигляді

нерівномірної експресії) та фактору Віллебранда, порівняно з 6 місяцем після трансплантації.

При аналізі показників лазерної доплерівської флоуметрії у хворих із хронічною ішемією нижніх кінцівок до трансплантації клітин кордової крові було достовірно ($p < 0,01$) більшим значення показника мікроциркуляції на фоновому запису з передпліччя лівої руки $7,02 \pm 1,04$ в порівнянні з нормою 4,6–6,0, що вказує на зміни в судинному руслі. Значення параметрів резерву капілярного кровотоку оклюзивної проби було достовірно ($p < 0,01$) меншим у хворих до лікування ($119,2 \pm 14,0$). Значення показника мікроциркуляції мало тенденцію до зниження ($5,57 \pm 2,80$). За даними вейвлет-аналізу у всіх хворих максимальна амплітуда ендотеліальних флаксмоцій та нейрогенних флаксмоній була достовірно ($p < 0,01$) більшою ($0,84 \pm 0,12$ та $0,90 \pm 0,11$) порівняно з нормою. Зростає артеріоло-венулярне шунтування, як компенсаторний перерозподільний механізм, що підтверджується отриманими нами даними показника шунтування, який був вищим ($2,53 \pm 0,49$ у.о. ($p < 0,01$)), порівняно з нормою – $1,13 \pm 0,14$.

При порівнянні параметрів лазерної доплерівської флоуметрії в динаміці лікування через 1 місяць після трансплантації клітин кордової крові відмічається достовірно ($p < 0,01$) зменшення мікроциркуляції фонові на 56%. При цьому значення резерву капілярного кровотоку нітрогліцеринової проби достовірно ($p < 0,01$) збільшувалось на 39,0 %. Відмічена тенденція до збільшення значень показника мікроциркуляції до $10,84 \pm 0,8$ ($p < 0,01$). Через 3 місяці після трансплантації можна відмітити нормалізацію мікроциркуляції фонові до $4,06 \pm 0,79$. Цікавим фактом виявилась тенденція до зниження показника шунтування тканинного кровотоку на пальцях нижніх кінцівок до $1,87 \pm 0,12$ у.о. ($p < 0,01$). При цьому значення резерв капілярного кровотоку оклюзивної проби достовірно ($p < 0,01$) збільшувалось на 62,5%, у порівнянні з вихідними даними. За даними вейвлет-аналізу мала місце тенденція до збільшення значення максимальної амплітуди ендотеліальних та респіраторних флаксмоцій до $1,12 \pm 0,03$ та $0,39 \pm 0,04$ відповідно ($p < 0,01$). Через 12 місяців після трансплантації стовбурових клітин кордової крові, відмітили нормалізацію мікроциркуляції фонові до $4,51 \pm 0,75$. Відмічається покращення рівня резерву капілярного кровотоку оклюзивної проби та резерву капілярного кровотоку нітрогліцеринової проби, до $232,4 \pm 21,6$ % ($p < 0,01$) та $352,0 \pm 29,0$ % ($p < 0,01$). При цьому значення резерву капілярного кровотоку оклюзивної проби достовірно збільшувалось на 95%. Такі зміни гемодинаміки свідчать про поліпшення стану мікрогемодинаміки внаслідок покращення венулярного відтоку, а також поліпшення ендотелійзалежної вазодилатації, що відбувається за рахунок посилення впливу на мікрогемодинаміку активних і пасивних механізмів регуляції процесів капілярного кровотоку (рис. 1). Показник шунтування тканинного кровотоку поступово зменшувався та до кінця 6 місяця набував значення $1,38 \pm 0,22$ у.о. ($p < 0,01$), фактично не відрізняючись від показників норми (рис. 2). Відмічена стійка тенденція до зростання показника мікроциркуляції I-го пальця стопи до $13,09 \pm 2,19$ у.о. ($p < 0,01$) через 12 місяців після трансплантації (рис. 3).

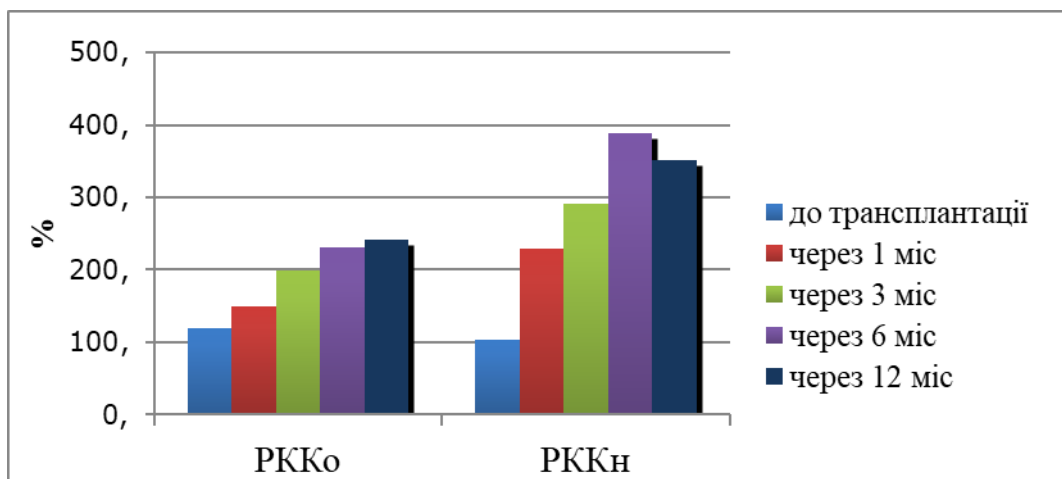


Рис. 1. Динаміка показника резерву капілярного кровотоку оклюзивної проби та резерву капілярного кровотоку нітрогліцеринової проби у пацієнтів до та після трансплантації стовбурових клітин кордової крові.

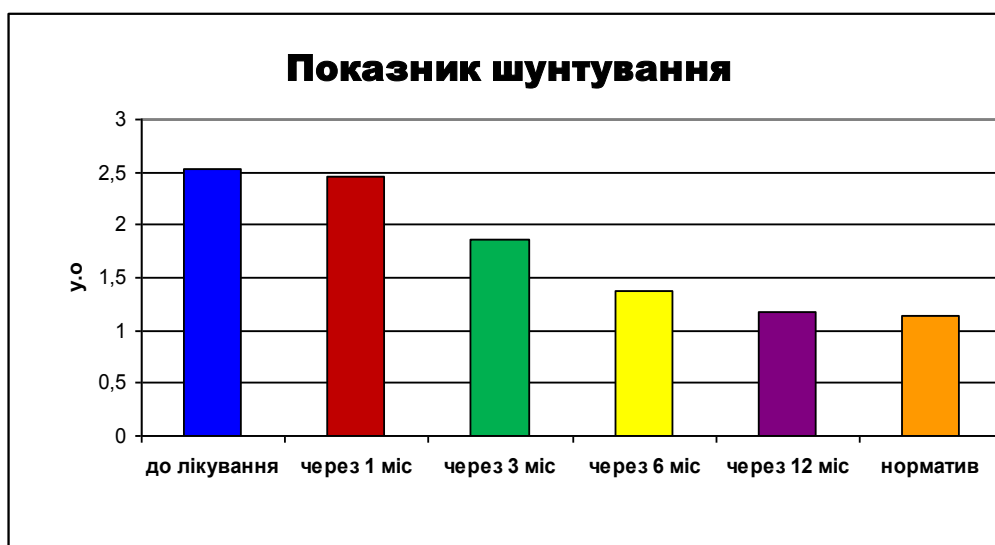


Рис. 2. Динаміка показника шунтування тканинного кровотоку у пацієнтів до та після трансплантації стовбурових клітин кордової крові.

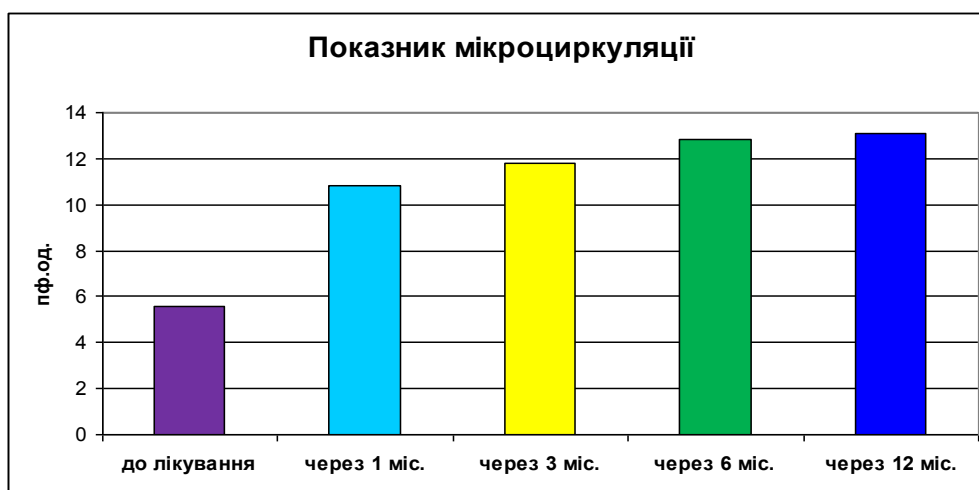


Рис. 3. Динаміка показника мікроциркуляції I-го пальця стопи у пацієнтів до та після трансплантації стовбурових клітин кордової крові.

Ангіографічне дослідження виконували до лікування (рис. 4) та не раніше ніж через 6–12 місяців після клітинної трансплантації. За його результатами у 92,3 % пацієнтів після трансплантації клітин кордової крові діагностовано покращення дистального русла завдяки розвинутій колатеральній мережі вздовж облітерованих магістральних артерій гомілки (рис. 5). В групі контролю ангіографічне дослідження проводили лише на початку дослідження.



Рис 4. До трансплантації (основна група, пацієнт – К).



Рис 5. Після трансплантації (основна група, пацієнт – К через 12 місяців)

У пацієнтів, які брали участь в клінічному дослідженні, упродовж місяця після клітинної трансплантації, спостерігалось покращення самопочуття: зменшувався, а надалі був відсутнім біль спокою, зменшувались трофічні розлади та загоювались крайові некрози, збільшувалась дистанція безбольової ходи та її швидкість. Через 3 міс після клітинної трансплантації відмічено збільшення дистанції безбольової спокійної ходи до 150 м у 22,2 % пацієнтів, до 200 м у 77,8 % пацієнтів. Болі спокою в нижніх кінцівках та парестезії відсутні у всіх пацієнтів. Через 6 місяців після клітинної трансплантації загальна дистанція безбольової ходи становила близько 250 м у 53,8 % пацієнтів та близько 300 м у 46,2 % пацієнтів. Усі пацієнти працездатні, ведуть активне соціальне та побутове життя. Відсутній біль у спокої та значно зменшились парестезії в кінцівках. Через 12 місяців після клітинної трансплантації стан пацієнтів стабільно добрий. 92,3 % пацієнтів працездатні, соціально та побутово адаптовані. Дистанція безбольової ходи у помірному темпі стабільна: близько 300 м у 38,4 % пацієнтів та до 350 м у 53,8 % пацієнтів. Шкіра нижніх кінцівок (гомілка, стопа) – волога, тургор задовільний, тепла на дотик, без трофічних розладів. У більшості пацієнтів протягом року після трансплантації спостерігали зменшення ступеню ішемії.

Для порівняльної оцінки якості життя пацієнтів після трансплантації стовбурових клітин кордової крові (основна група) використали дані групи контролю.

Збільшення дистанції та швидкості безболісної ходи активніше відбувалося у пацієнтів основної групи, яким проводилась трансплантація клітин кордової крові (табл. 1), що через 6 місяців були більшими на 9,1 % за результати групи контролю, а через 12 місяців перевищували аналогічні показники в 1,4 рази.

Таблиця 1

Визначення дистанції безболісної ходи та можливої швидкості ходьби у пацієнтів обох груп

	До лікування	Через 1 місяць	Через 3 місяці	Через 6 місяців	Через 12 місяців
1 група (основна)	14,44±0,41	18,89±0,35	21,33±0,24	24,11±0,35	26,22±0,28
2 група (контрольна)	15,09±0,58	18,64±0,53	20,18±0,38	21,91±0,39	18,09±0,58
Відмінності між групами	немає відмінностей (p>0,05)	немає відмінностей (p>0,05)	достовірна різниця p<0,05	достовірна різниця p<0,01	достовірна різниця p<0,01

У пацієнтів контрольної групи через 1 місяць відмічено невірогідне покращення індексу якості життя на 3,4 %, порівняно з пацієнтами, котрим виконано трансплантацію клітин корової крові. Однак, вже через 3 місяці і надалі, спостерігали зниження динаміки росту індексу якості життя у пацієнтів групи контролю. Через 12 місяців після консервативного лікування даний показник відрізнявся у 1,3 рази від початкових результатів (табл. 2).

Таблиця 2

Визначення індексу якості життя у пацієнтів обох груп

	До лікування	Через 1 місяць	Через 3 місяці	Через 6 місяців	Через 12 місяців
1 група (основна)	5,11±0,26	5,78±0,15	6,89±0,26	8,44±0,18	8,89±0,11
2 група (контрольна)	5,18±0,33	5,82±0,18	6,09±0,21	6,55±0,16	6,82±0,23
Відмінності між групами	(p>0,05)	(p>0,05)	p<0,05	p<0,01	p<0,01

У пацієнтів основної групи збільшення індексу якості життя відмічається через 1 місяць після трансплантації та незначно відрізняється від показника групи контролю. Проте, вже через 3 місяці у пацієнтів після трансплантації індекс якості життя становив 6,9 балів, перевищуючи аналогічний показник хворих контрольної групи в 1,13 рази. Через 6 місяців після трансплантації клітин кордової крові відмічається зростання індексу якості життя в 1,3 рази,

порівняно з контролем. Через 12 місяців після трансплантації даний показник становив 9,1 бали, перевищуючи аналогічний показник хворих контрольної групи на 24 % та збільшуючись від початкових даних у 1,8 рази.

За період проведення дослідження обох груп одному з пацієнтів основної групи (7,7 %) через 6 місяців після клітинної трансплантації була виконана ампутація кінцівки. Незважаючи на покращення клінічного стану та переходу ступеня ішемії з 4 класу по Рутерфорду на 3 клас, на тлі гострого порушення мозкового кровообігу зафіксували гострий артеріальний тромбоз підколінної артерії. Хвора не підлягала проведенню реконструктивних операцій (враховуючи важкість загального стану пацієнта обумовленого порушенням мозкового кровообігу та ураженням дистального артеріального русла хворої кінцівки), а призначена консервативна терапія мала недовготривалий результат. У зв'язку з погіршенням загального стану та появою вираженого больового синдрому кінцівка була ампутувана. Пацієнтка вибула з основної групи, проте її результати, отримані в попередні терміни, враховуються в нашому дослідженні. Смертність за час проведення дослідження в обох групах була відсутня.

Варто зазначити, що завдяки застосуванню методу непрямой ревазуляризації шляхом трансплантації клітин кордової крові та стимуляції ангіогенезу, був отриманий тривалий позитивний клінічний ефект, що проявляється у вигляді зниження ступеня ішемії, збільшення дистанції та швидкості безбольової ходьби, покращення працездатності, поліпшення особистого благополуччя пацієнтів у фізичній, психологічній та соціально-економічній сфері, та, як наслідок, покращення взаємовідносин у сім'ї.

Клінічно доведено, що використання методу трансплантації клітин кордової крові пацієнтам, яким не можливо виконати прямі реконструктивні втручання, розширює можливості успішного лікування хворих з хронічною ішемією нижніх кінцівок на тлі облітеруючого атеросклерозу та може стати останнім порятунком для хворих, які знаходяться на межі ампутації.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі викладене теоретичне узагальнення, наукове обґрунтування та нове практичне вирішення актуального завдання судинної хірургії – покращення результатів лікування хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок шляхом розробки та впровадження нових методів ревазуляризації зі стимулюванням ангіогенезу та моделюванням капілярного русла із застосуванням трансплантації клітин кордової крові. Дисертаційна робота присвячена оптимізації хірургічної тактики та вибору методу лікування і післяопераційної реабілітації у хворих з атеросклерозом при хронічній ішемії нижніх кінцівок на фоні дистального ураження артерій, покращення клінічного перебігу і результатів лікування, що знижує частоту післяопераційних ускладнень і покращує якість життя таких пацієнтів.

1. Встановлено, що після проведення оцінки результатів лікування хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок, особливі труднощі виникають при

лікуванні пацієнтів з дистальним типом ураження артерій. Незадовільні результати існуючих методів лікування даної категорії хворих потребують розробки нових непрямих методів реваскуляризації, одним з яких є трансплантація клітин кордової крові.

2. В експерименті після моделювання ішемії та введення клітин кордової крові, встановлено постійну структурну стимуляцію регенераторних процесів і ангиогенезу внаслідок збільшення експресії фактору Віллебранда та експресії віментину, які є маркерами утворення ендотеліоцитів та стимуляції ангиогенезу, що підтверджується гістологічними та імуно-гістохімічними дослідженнями. При проведенні проб з фізичним навантаженням у дослідній групі тварин відмічено збільшення дистанції одномоментного пробігу в 1,3 рази ($p < 0,05$) та часу примусового плавання на 21 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою.

3. На основі отриманих даних експериментального дослідження розроблено методику лікування пацієнтів з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок, яка полягає у використанні трансплантації клітин кордової крові у хворих на хронічну ішемію кінцівок, що призводить до стимуляції ангиогенних процесів зі стабілізацією регенераторної реакції, проявляється формуванням мережі функціонуючих капілярів що підтверджується посиленням експресії мезенхімального фактору віментину в периваскулярних структурах та фактору Віллебранда в стінці новоутворених капілярів, пік активності цих процесів припадає на 3-6 місяць дослідження.

4. Через 12 місяців після трансплантації клітин кордової крові встановлено, що активація процесів ангиогенезу характеризувалась нормалізацією показника мікроциркуляції фонового до $4,51 \pm 0,75$ ($p < 0,01$), збільшенням показників резерву капілярного кровотоку на 95 % ($p < 0,01$), зростанням показника мікроциркуляції I-го пальця стопи у 2,4 рази ($p < 0,01$), порівняно з початковими даними, у 88,9 % пацієнтів діагностовано покращання дистального кровотоку завдяки розвинутій колатеральній мережі що підтверджується нормалізацією основних показників лазерної доплерівської флоуметрії.

5. Встановлено збільшення індексу якості життя у пацієнтів основної групи на 24 % ($p < 0,01$), порівняно з контрольною групою та у 1,8 разу ($p < 0,01$) від початкових даних. Дистанція та швидкість безбольової ходьби у пацієнтів основної групи через 12 місяців після трансплантації в 1,4 разу ($p < 0,01$) вищі за результати групи контролю. Використання методу трансплантації клітин кордової крові у хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок призводить до стійкого зростання якості життя завдяки зниженню ступеня ішемії та, як наслідок, покращення працездатності, поліпшення особистого благополуччя пацієнтів у фізичній, психологічній та соціально-економічній сфері.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Трансплантацію клітин кордової крові слід використовувати для лікування хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок з дистальним ураженням, як метод непрямой реваскуляризації, що дає можливість збільшити

дистанцію безболісної ходи, зменшити ступінь ішемії кінцівки та покращити результати лікування.

2. Доцільно застосовувати лазерну доплерівську флоуметрію, як метод моніторингу стану мікроциркуляторного русла у хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок, яким проводились непрямі методи реваскуляризації.

3. Для зменшення травматизації ішемізованої кінцівки при проведенні непрямой реваскуляризації рекомендовано застосувати запропоновану методику введення клітин кордової крові.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Стаття у науковому фаховому виданні України:

1. Домбровський Д. Б., Пшиборовська Ю. Р., Яковець К. І., Савін В. В., Оліник Ю. В., Максим'юк В. В. Характеристика та шляхи використання стовбурових клітин кордової крові. Буковинський медичний вісник. 2014. Т. 18. №1(69). С. 151–155. *(Здобувачем досліджено результати використання клітин кордової крові при різних нозологіях, написано статтю).*

2. Домбровський Д. Б., Савін В. В., Пшиборовська Ю. Р. Трансплантація клітин кордової крові як метод лікування хворих з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2018. №22(3). С. 450–455. *(Здобувачем запропоновано та виконано трансплантацію клітин кордової крові у хворих із хронічною ішемією, написано статтю).*

Статті у наукових фахових виданнях України,

включені до міжнародних наукометричних баз даних:

3. Домбровський Д. Б., Савін В. В., Оліник Ю. В., Пшиборовська Ю. Р., Максим'юк В. В. Імуногістохімічна характеристика диференціації клітин кордової крові за різних умов трансплантації в експерименті. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2013. №12(4). С. 32–37. *(Здобувачем досліджено вплив клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано статтю).*

4. Домбровський Д. Б., Савін В. В., Максим'юк В. В. Морфологічна та імуногістохімічна характеристика трансплантації стовбурових клітин пуповинної крові за умов ішемії кінцівок в експерименті. Клінічна та експериментальна патологія. 2015. Т. XIV. №1(51). С. 51–54. *(Здобувачем досліджено вплив клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано статтю).*

5. Домбровський Д. Б., Савін В. В. Оцінка стану мікрогемодинаміки за допомогою лазерної доплерівської флоуметрії у хворих із хронічною ішемією нижніх кінцівок після трансплантації клітин кордової крові. Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука. 2016. №1(73). С. 34–37. *(Здобувачем проведено оцінку даних лазерної доплерівської флоуметрії після трансплантації клітин кордової крові, написано статтю).*

6. Савін В. В. Зміни гістологічної структури м'язової тканини за умов експериментальної ішемії. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2016.

№15(3). С. 81–86. *(Здобувачем досліджено вплив клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано статтю).*

7. Dombrovsky D. B., **Savin V. V.**, Maksymyuk V. V. ., Transplantation of the cord blood stem cells under conditions of experimental ischemia. Morphological and immunohistochemical characteristics. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2017. №16(1). С. 65–69. *(Здобувачем досліджено вплив клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано статтю).*

**Стаття у науковому виданні іншої держави,
яка входить до Європейського Союзу:**

8. Dombrovskiy D. B., **Savin V. V.**, Oliynyk Yu. V., Sheremet M. I., Pshyborovska Yu.R. Clinical and functional aspects of cord blood cell transplantation in patients with distal lesion of lower limb arteries. Letters in Applied NanoBioScience. 2020. Vol. 9(2). P. 952–955. *(Здобувачем запропоновано та виконано трансплантацію клітин кордової крові у хворих із дистальним ураженням, написано статтю).*

Статті у інших наукових виданнях України:

9. Домбровський Д. Б., **Савін В. В.**, Пшиборська Ю. Р. Клініко-функціональні аспекти трансплантації клітин кордової крові у хворих із дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Медицина. 2020. №1. С. 38–44. *(Здобувачем запропоновано та виконано трансплантацію клітин кордової крові у хворих із хронічною ішемією, написано статтю).*

10. Домбровський Д. Б., Салютін Р. В., **Савін В. В.**, Пшиборська Ю. Р. Імуногістохімічна характеристика процесів після трансплантації клітин кордової крові при ішемії кінцівок в експерименті. Клінічна флебологія. 2013. №6(1). С. 29–33. *(Здобувачем запропоновано трансплантацію клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано статтю).*

11. Домбровський Д. Б., Давиденко І. С., **Савін В. В.**, Пшиборська Ю. Р., Масний О. І. Клініко-експериментальні аспекти клітинної трансплантації при хронічній ішемії кінцівок. Клінічна флебологія. 2014. №7(1). С. 150–151. *(Здобувачем досліджено результати експериментальних та клінічних досліджень використання клітин кордової крові при хронічній ішемії, написано статтю).*

12. Домбровський Д. Б., **Савін В. В.**, Масний О. І. Стимуляція ангіогенних процесів за умов ішемії кінцівок в експерименті та в клініці після трансплантації стовбурових клітин кордової крові. Клінічна флебологія. 2015. №8(1). С. 94–95. *(Здобувачем досліджено результати експериментальних та клінічних досліджень використання клітин кордової крові при хронічній ішемії, написано статтю).*

13. Домбровський Д. Б., Салютін Р. В., **Савін В. В.** Непряма реваскуляризація як метод вибору в лікуванні хворих з ураженням артеріального дистального русла. Клінічна флебологія. 2016. №9(1). С. 69–70. *(Здобувачем досліджено ефективність непрямих методів при хронічній ішемії, написано статтю).*

14. **Савін В. В.**, Домбровський Д. Б., Пшиборовська Ю. Р. Трансплантація клітин кордової крові у хворих з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. Клінічна флебологія. 2017. №10(1). С. 53–54. *(Здобувачем запропоновано та виконано трансплантацію клітин кордової крові у хворих із дистальним ураженням, написано статтю).*

Тези наукових доповідей:

15. Dombrovsky D. B., Olinyk Ju. V., **Savin V. V.**, Pshiborovska Ju. R. Ultrastructural changes of vascular endothelial during transplantation of mesenchymal stem cells of fatty tissue at term of ischemia in experiment. Medicine of the republic of Moldova: The XIX session of Balkan medical days and the second congress of emergency, Moldova, September 22–24, 2013: abstracts book. Archives of the Balkan Medical Union. 2013. Vol. 48(3). P. 109. *(Здобувачем досліджено вплив клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано тези).*

16. Домбровський Д. Б., Салютін Р. В., Олійник Ю. В., **Савін В. В.** Зміни гістологічної структури м'язової тканини за умов ішемії в експерименті. Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика: Міжнародна науково-практична конференція, м. Київ, 22–23 листопада 2013 року: тези доповіді. Київ, 2013. С. 40–45. *(Здобувачем досліджено вплив клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано тези).*

17. Домбровський Д. Б., Пшиборовська Ю. Р., **Савін В. В.** Клініко-експериментальні аспекти клітинної трансплантації при хронічній ішемії кінцівок. XV конгрес Світової Федерації Українських Лікарських Товариств, м. Чернівці, 16–18 жовтня 2014 року: тези доповіді. Чернівці, 2014. С. 271–272. *(Здобувачем запропоновано та виконано трансплантацію клітин кордової крові у хворих із хронічною ішемією, написано тези).*

18. Домбровський Д. Б., Салютін Р. В., **Савін В. В.**, Олійник Ю. В. Стимуляція процесів ангиогенезу за умов ішемії кінцівок в експерименті. 95 підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету, присвячена 70-річчю, м. Чернівці, 17–21 лютого 2014 року: тези доповіді. Чернівці, 2014. С. 111–112. *(Здобувачем досліджено вплив клітин кордової крові в експериментальній моделі ішемії, написано тези).*

19. **Савін В. В.**, Домбровський Д. Б., Масний О. І. Стимуляція ангиогенних процесів за умов ішемії кінцівок в експерименті та в клініці після трансплантації стовбурових клітин кордової крові. 97 підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького складу Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці, 15–22 лютого 2016 року: тези доповіді. Чернівці, 2016. С. 156–157. *(Здобувачем запропоновано та виконано трансплантацію клітин кордової крові у хворих із хронічною ішемією, написано тези).*

20. Домбровський Д. Б., **Савін В. В.**, Пшиборовська Ю. Р. Трансплантація кордової крові у лікуванні пацієнтів з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. Сухаревські читання – ангиологія та судинна хірургія сьогодні: Конгрес асоціації судинних хірургів, флебологів та ангиологів України,

м. Київ, 11–12 квітня 2019 року: тези доповіді. Клінічна флебологія. 2019. №11(1). С. 53–55. *(Здобувачем запропоновано та виконано трансплантацію клітин кордової крові у хворих із дистальним ураженням, написано статтю).*

Патент на корисну модель:

21. Домбровський Д. Б., **Савін В. В.**, Пшиборовська Ю. Р. Патент на корисну модель №131176 Україна, МПК А61В 17/00. Спосіб лікування хворих з ішемією нижніх кінцівок; власник Вищий державний навчальний заклад «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України; № u201806800; заявлено 15.06.2018; опубліковано 10.01.2019. Бюл. №1. *(Здобувачем запропоновано спосіб лікування хворих з ішемією нижніх кінцівок шляхом трансплантації стовбурових клітин в зону ішемізованої м'язової тканини гомілки у вигляді стрічкової доріжки вздовж облітерованих судин за допомогою довгої канюлі та оформлено патент).*

АНОТАЦІЯ

Савін В. В. Клітинна стимуляція ангиогенезу в комплексному лікуванні хворих на хронічну ішемію кінцівок. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.03 «Хірургія». – Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова НАМН України», Київ, 2021.

У дисертації вивчено та обґрунтовано проблему лікування хворих на хронічну ішемію нижніх кінцівок з оклюзійно-стенотичним ураженням артерій гомілок (так званого дистального русла).

Встановлена доцільність і необхідність застосування методу непрямой ревазуляризації шляхом клітинної трансплантації клітин кордової крові та стимуляції ангиогенезу, якій надав можливість отримати тривалий позитивний клінічний ефект, що проявлявся у збільшенні дистанції та швидкості безбольової ходьби, завдяки зниженню ступеня ішемії, покращення працездатності, поліпшення особистого благополуччя пацієнтів у фізичній, психологічній та соціально–економічній сфері, та, як наслідок, покращення взаємовідносин у сім'ї. Встановлено, що використання методу трансплантації клітин кордової крові пацієнтам, яким не можливо виконати «прямі» реконструктивні втручання, розширює можливості успішного лікування хворих з хронічною ішемією нижніх кінцівок на тлі облітеруючого атеросклерозу та може стати останнім порятунком для хворих, які знаходяться на межі ампутації.

Ключові слова: хронічна ішемія, клітини кордової крові, дистальне ураження, ангиогенез.

АННОТАЦИЯ

Савин В.В. Клеточная стимуляция ангиогенеза в комплексном лечении больных хронической ишемией конечностей. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.03 «Хирургия». – Государственное учреждение

«Национальный институт хирургии и трансплантологии имени А. А. Шалимова НАМН Украины», Киев, 2021.

В диссертации изучено и обоснованно проблему лечения больных хронической ишемией нижних конечностей с окклюзионно-стенозирующим поражением артерий голени (так называемого дистального русла).

Согласно законодательной базы, которая существует на сегодняшний день, проводить клинические исследования с использованием клеточной трансплантации, возможно только после проведения экспериментальных исследований.

В основе экспериментального исследования было изучение влияния трансплантации клеток кордовой крови на процессы ангиогенеза у животных с моделированной ишемией конечности с помощью гистологических и иммуногистохимических методов исследования, а также проведение проб с физической нагрузкой.

Для проведения клинической части исследования приняли участие 46 пациентов с проявлениями хронической ишемии нижних конечностей на фоне атеросклероза, находившихся на стационарном лечении в отделении хирургии сосудов Черновицкой областной клинической больницы.

Степень, локализацию и распространенность поражения артериального русла нижних конечностей определяли на основе анализа результатов ультразвуковой доплерографии и рентгенконтрастной ангиографии.

С помощью экспериментального и клинического этапа работы, учитывая данные гистологических и иммуногистохимических методов, установлена целесообразность и необходимость применения метода непрямой реваскуляризации путем трансплантации клеток кордовой крови и стимуляции ангиогенеза, которой предоставил возможность получить длительный положительный клинический эффект, и проявлялся в увеличении дистанции и скорости безболевого ходьбы, благодаря снижению степени ишемии, улучшение работоспособности, улучшение личного благополучия пациентов в физической, психологической и социально-экономической сфере, и, как следствие, улучшение взаимоотношений в семье.

Установлено, что использование метода трансплантации клеток кордовой крови пациентам, которым невозможно выполнить «прямые» реконструктивные вмешательства, расширяет возможности успешного лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей на фоне облитерирующего атеросклероза и может стать последним спасением для больных, которые находятся на грани ампутации.

Ключевые слова: хроническая ишемия, клетки кордовой крови, дистальное поражение, ангиогенез.

ANNOTATION

Savin V. V. Cellular stimulation of angiogenesis in the complex treatment of patients with chronic ischemia of the extremities. – The Manuscript.

Dissertation for a candidate degree in medical sciences in specialty 14.01.03 «Surgery». – State Institution «O. O. Shalimov National Institute of Surgery

and Transplantology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, 2021.

The dissertation studies and substantiates the problem of treatment of patients with chronic ischemia of the lower extremities with occlusive-stenotic lesions of the tibial arteries (the so-called distal bed).

The expediency and necessity of using the method of indirect revascularization by cell transplantation of cord blood cells and stimulation of angiogenesis, which allowed to obtain a long-term positive clinical effect, which manifested itself in reducing the percentage of disability by reducing the number of amputations, increasing distance and painless gait, improving the ability to work, improving the personal well-being of patients in the physical, psychological and socio-economic spheres, and, as a consequence, improving family relationships.

It has been established that the use of cord blood cell transplantation in patients who cannot perform "direct" reconstructive interventions expands the possibilities of successful treatment of patients with chronic ischemia of the lower extremities on the background of obliterating atherosclerosis and may be the last resort for patients with amputation.

Key words: chronic ischemia, cord blood cells, distal lesion, angiogenesis.

