

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

ОЛНИК ЮРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ

УДК 616.14-002.44-089.843:611.018.5

**ТРАНСПЛАНТАЦІЯ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ В КОМПЛЕКСНОМУ
ЛІКУВАННІ ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМИ ТРОФІЧНИМИ ВИРАЗКАМИ
ВЕНОЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ**

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
Черняк Віктор Анатолійович,
Київський національний університет імені Тараса
Шевченка МОН України,
директор Університетської клініки

доктор медичних наук, професор
Чернуха Лариса Михайлівна,
Державна установа «Національний інститут
хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова»
НАМН України,
головний науковий співробітник відділу хірургії
магістральних судин

Захист відбудеться «7» травня 2021 року о 11⁰⁰ 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. Незважаючи на досягнення сучасної медицини, комплексне лікування трофічних виразок венозної етіології залишається актуальним та до кінця не вирішеним питанням сьогоденної хірургії. Венозна гіпертензія є одним з чинників розвитку трофічних порушень та ініціює цілий каскад патологічних реакцій на субклітинному, клітинному та тканинному рівнях (Keser I., 2020). За даними літератури, трофічні венозні виразки становлять понад 70 % усіх виразок нижніх кінцівок і виявляють у кожного п'ятого пацієнта з хронічною венозною недостатністю (Raffetto J., 2020; Русин В., 2014), на яку страждає не менше 17 % населення України (Кобза І., 2016). Поширеність трофічних венозних виразок в Україні у 5–6 разів вища ніж аналогічні показники у світі, що пояснюється низьким соціальний рівнем та медичною культурою пацієнтів, які запізно звертаються по допомогу (Нікульніков П., 2019).

За матеріалами Американського венозного форуму, серед загальної кількості хронічних ранових дефектів нижніх кінцівок, на долю саме венозних виразок припадає більш ніж 50 % (Гудз І., 2016).

Проведені в Україні епідеміологічні дослідження свідчать про те, що при стандартній консервативній терапії тривалістю до 4-х місяців загоєння венозних трофічних виразок настає лише у 50 % випадків, 20 % не загоюється після 2-х років лікування, а після 5-ти років у 8 % пацієнтів виразковий дефект залишається відкритим (Чернуха Л., 2017). Хронічні венозні виразки призводять до втрати працездатності у 45 % хворих, які обмежені в мобільності і змушені пересуватись лише в межах дому (Кобза І., 2016), а довготривалий процес лікування несе за собою значні фінансові затрати (Черняк В., 2019).

Частота захворюваності хронічної венозної недостатності серед дорослого населення Європи (середні показники по всіх країнах у хворих у віці 30–70 років) становить 25,0–50,0 %, причому важкі форми із трофічними розладами спостерігаються приблизно у 15,0 % (Бабинкіна І., 2020; Santler В., 2017). У країнах Європи, за умов лікування у профільних клініках, за 6 місяців терапії вдається досягнути загоєння виразкового дефекту у 70 % пацієнтів, у стаціонарах загального призначення цей показник складає лише 45 %, а у 69 % пацієнтів протягом 12 місяців виникає рецидив захворювання (Gottrup F., 2014; Flanagan M., 2013).

Пошук нових методів комплексного лікування трофічних виразок нижніх кінцівок є актуальним питанням сучасної флебології, адже не зважаючи на постійну роботу гістопатологів, хірургів та фармацевтів над прогнозуванням розвитку ранового процесу, його загоєння залишається майже недосяжною ціллю. Останніми роками увагу науковців все більше привертають технології, що пов'язані із використанням клітинних трансплантацій при різних патологічних станах: ішемії кінцівок, панкреонекрозі, цукровому діабеті, онкогематології, опіковій хворобі та інших захворюваннях (Pasteur I., 2020; Shulha M., 2018; Поляченко Ю., 2013). Разом з тим, проблема використання

трансплантації клітин кордової крові пацієнтам з хронічними трофічними виразками на тлі венозної гіпертензії, ще не стала об'єктом цілеспрямованих різнобічних досліджень, які дозволили б розкрити вплив стовбурових клітин на активацію механізмів репарації та регенерації виразкового дефекту. Такі дослідження склали б основу для розробки нових методів комплексного лікування пацієнтів з даною патологією.

Завдяки величезній біологічній цінності кордової крові її розглядають як джерело стовбурових клітин на рівні з іншими джерелами: кістковим мозком, периферійною кров'ю, плацентою, жировою тканиною та ін. (Pittenger M., 2019; Pasteur I., 2020).

При вивченні спрямованого диференціювання стовбурових клітин було помічено певну схожість у послідовності експресії маркерних генів і білків *in vitro* та *in vivo*. Ці дані свідчать про те, що стовбурові клітини є адекватною експериментальною моделлю для вивчення механізмів диференціювання *in vitro*, що відкриває певні перспективи для аналізу регуляції цього процесу на окремих його етапах *in vivo* (Harrell C., 2020; Guan K., 1999). Ці клітини мають здатність диференціюватися в різні типи клітин і відновлювати тканини пошкоджених органів: печінки, серця, шкіри, судин, кісток та ін. (Pittenger M., 2019; Поляченко Ю., 2013).

Проте, в літературі є мало даних щодо ведення наукових пошуків можливості застосування клітинних технологій для лікування пацієнтів з трофічними виразками причиною появи яких стала саме венозна гіпертензія.

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 алогенного 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 венозну недостатність з трофічними виразками із застосуванням трансплантації клітин кордової крові.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Розробити експериментальну модель трофічної виразки кінцівки, що поєднана із венозною гіпертензією.

2. Провести гістологічні та імуногістохімічні дослідження репаративних процесів в тканинах кінцівки в зоні ураження після трансплантації клітин кордової крові в експерименті.

3. В експериментальних умовах дослідити морфологічні зміни у всіх шарах шкіри, підшкірної клітковини та м'язах на різних етапах розвитку трофічної виразки, що пов'язана з венозною гіпертензією.

4. Провести гістологічні та імуногістохімічні дослідження ефективності стимуляції репаративних процесів у хворих з хронічною венозною виразкою після трансплантації клітин кордової крові.

5. На основі математичної моделі провести оцінку швидкості загоєння виразкового дефекту в клінічних умовах.

6. Вивчити показники якості життя хворих з хронічними венозними виразками до та після лікування.

Об'єкт дослідження – декомпенсована хронічна венозна недостатність нижніх кінцівок (С6 за СЕАР) з трофічною виразкою, що тривало не загоюється.

Предмет дослідження – процеси, які активують власні регенераторні можливості організму після трансплантації стовбурових клітин кордової крові.

Методи дослідження: загальноклінічні, об'єктивні обстеження, лабораторні, гістологічне, імуногістохімічне дослідження біоптатів трофічної виразки в експерименті та клініці до та після трансплантації стовбурових клітин кордової крові, планіметричні, статистичні методи дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше була розроблена модель трофічної виразки кінцівки, що поєднана з венозною гіпертензією.

Вперше були проведені гістологічні та імуногістохімічні дослідження процесів, що відбуваються в ділянці трофічної виразки на тлі венозної гіпертензії в експерименті.

Вперше на основі розробленої моделі були визначені критерії стимуляції репаративних процесів після трансплантації клітин кордової крові в зону ураження.

Вперше були обґрунтовані нові підходи до лікування хворих з венозними трофічними виразками із застосуванням трансплантації клітин кордової крові.

Вперше була проведена математична оцінка ефективності застосування клітин кордової крові у хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології.

Практичне значення одержаних результатів. Дослідження дозволили виявити механізми, що мають місце в тканинах до та після клітинної трансплантації при венозних трофічних виразках, послідовність морфологічних змін шкіри, підшкірної клітковини та м'язової тканини на різних етапах розвитку трофічної виразки. Вивчено вплив трансплантації клітин кордової крові на стимуляцію процесів відновлення та регенерації за умов моделювання в експерименті венозної трофічної виразки. Впровадження результатів експериментального дослідження по трансплантації кордової крові у клінічну практику дозволило покращити рівень лікування пацієнтів з хронічною трофічною виразкою венозної етіології, зменшило термін перебування хворого на лікарняному ліжку, рівень інвалідизації пацієнтів, покращило якість життя хворих, призвело до значного зменшення розмірів виразкового дефекту або повного його загоєння.

У ході дослідження розроблено раціоналізаторську пропозицію «Спосіб лікування трофічних виразок венозного генезу за допомогою трансплантації клітин кордової крові».

Результати дисертаційного дослідження впроваджені у лікувальну роботу комунального некомерційного підприємства «Вінницька обласна клінічна лікарня імені М. І. Пирогова» Вінницької обласної ради; комунального некомерційного підприємства «Олександрівська клінічна лікарня м. Києва» Київської міської державної адміністрації, обласного комунального некомерційного підприємства «Чернівецька обласна клінічна лікарня», а також у навчальний процес кафедри хірургії №1 Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України; кафедри хірургії з курсом невідкладної та судинної хірургії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України; відділу хірургії магістральних судин Державної установи «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України; медичного факультету Ужгородського національного університету МОН України.

Особистий внесок здобувача. Мета, завдання та методи дослідження визначені автором сумісно з науковим керівником. Самостійно проведено патентний пошук та сформована база досліджень, проведено статистичне опрацювання результатів досліджень, узагальнено результати та оформлено дисертацію. Здобувач самостійно провів експериментальну частину роботи, підбір хворих та їх клінічне обстеження, брав участь у трансплантації стовбурових клітин кордової крові та самостійно їх виконував. Здійснював лікування хворих у післяопераційному періоді та диспансерне спостереження після виписки зі стаціонару. Самостійно формував практичні рекомендації і висновки. У наукових роботах опублікованих у співавторстві, ідеї співавторів не використано. Здобувач самостійно провів аналіз результатів клінічних, інструментальних досліджень, трансплантацій стовбурових клітин кордової крові, статистичне обчислення матеріалів. Роль автора була провідною у підготовці публікацій. Персональний внесок здобувача у наукових працях, опублікованих із співавторами, становить 80–95%, з чим погодились співавтори публікацій. Спільно з співавторами здійснювались аналіз отриманих результатів досліджень, збір додаткової інформації, статистична обробка даних, зокрема тих, які неможливо здійснювати самостійно. При цьому, здобувачем не були використані результати та ідеї співавторів публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні результати та положення дисертації було представлено на: Конгресі ангіологів та судинних хірургів України «Гострі та хронічні захворювання судин «Від теорії до практики» (м. Київ, 2014 р.); науково-практичній конференції «Сучасні досягнення та проблеми хірургії в Україні» (м. Чернівці, 2015 р.); Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених Bukovinian International Medical Congress (BIMCO) (м. Чернівці, 2015 р.); 39th International Medical Scientific Congress (Ohrid, Macedonia, 2016); International medical students Congress Sarajevo SAMED (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 2016); III-й науково-практичній конференції з міжнародною участю “Сучасні досягнення ендоскопічної хірургії”, присвячена 90-річчю з дня народження професора І. І. Мітюка (м. Вінниця, 2019 р.); науково-практичних конференціях з

міжнародною участю «Сухаревські читання» (м. Київ, 2013, 2014, 2016, 2019, 2020 рр.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць, з яких 3 статті у науковому фаховому виданні України; 2 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; 4 тез наукових доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 161 сторінці і складається з анотацій, вступу, восьми розділів, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків. Основний текст містить 7 таблиць та 58 рисунків. Список цитованої літератури включає 130 джерел (з них 65 латиницею).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ ЕТІОПАТОГЕНЕЗУ ТА МЕТОДИ ЛІКУВАННЯ ТРОФІЧНОЇ ВИРАЗКИ ВЕНОЗНОГО ГЕНЕЗУ (огляд літератури)

У розділі представлено епідеміологічні показники захворюваності та інвалідизації пацієнтів з трофічними виразками при хронічній венозній недостатності, сучасні уявлення про етіологію та патогенез їх утворення. Проаналізовано існуючі методи лікування, переваги та недоліки кожного з них; здійснено ретельний аналіз досліджень вітчизняних і зарубіжних авторів з питань використання трансплантації стовбурових клітин різного походження в сучасній медицині.

Представлено короткий історичний екскурс становлення клітинної трансплантації в Україні та світі. Наведено детальні структурно-функціональні характеристики стовбурових клітин кордової крові, її переваги над іншими джерелами та практичне використання.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дисертаційна робота виконана у Буковинському державному медичному університеті МОЗ України та складається з експериментальної та клінічної частин.

Характеристика експериментальної частини. Експериментальне дослідження мало на меті вивчити особливості впливу трансплантації клітин кордової крові на процеси регенерації трофічної виразки венозної етіології. Загальна кількість дослідних тварин, які знаходились при кімнатній температурі та на звичайному лабораторному раціоні складала – 50 щурів. Середня маса щурів складала $240,4 \pm 4,56$ грам. Всім тваринам, за власною методикою, змодельовано трофічну виразку на задній кінцівці в поєднанні з венозною гіпертензією. По латеральній поверхні стегна за допомогою ножиць

кінцівка звільнялась від шерсті. Операція проводилась під кетаміновим знечуленням. Для моделювання рани на депільованій ділянці шкіри в нижній третині стегна за допомогою ножиць видаляли шкірний лоскут з поверхневою фасцією, попередньо позначений за допомогою спеціального шаблону ($D=2$ см), краї та дно рани додатково травмувались зубчастим затискачем. З метою створення перешкод для крайової епітелізації периметр створеного шкірноапоневротичного дефекту обшивався безперервним обвивним швом капроною ниткою 5.0. Поверхня створеної рани мала площу 2 см^2 , що складало близько 5 % від загальної площі шкірних покривів. Далі, з метою формування венозної гіпертензії, у верхній третині внутрішньої поверхні стегна цієї ж кінцівки робився розріз до 0,5 см, ідентифікувалась та мобілізувалась стегнова вена, яка перев'язувалась в двох місцях на відстані 1 см одне від одного, рана ушивалась

Експериментальні тварини поділені на 2 групи: I група – основна, 25 тварин, яким в м'язову тканину, підфасціально, під виразку на 3 добу після її моделювання вводилась клітинна суспензія, II група – контрольна, 25 тварин, яким відповідно вводили фізіологічний розчин. Забір матеріалу для дослідження проводили на 5, 10, 14, 21, 25 добу. Хірургічним шляхом, під кетаміновим знечуленням, висікалась змодельована трофічна виразка відступивши на 0,5 см від її країв з захопленням всіх шарів дерми та м'язової тканини.

Аналіз доклінічного експериментального етапу дослідження, проведеного на білих лабораторних лінійних щурах, дозволив перейти до наступного – клінічного етапу, для якого було відібрано 32 пацієнта з трофічними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються. Всі хворі отримували стаціонарне лікування в умовах відділення хірургії судин обласного комунального некомерційного підприємства «Чернівецька обласна клінічна лікарня» у період з 2015–2019 роки. Причиною венозної недостатності даних пацієнтів був діагноз: посттромбофлебітична хвороба нижніх кінцівок, С6 за СЕАР.

Клінічна характеристика хворих. Залежно від тактики лікування хворі розподілені на дві групи: дослідження та контролю. Групу дослідження склали 14 пацієнтів, яким на тлі базисної терапії під епідуральною анестезією пункційно під виразку вводилась клітинна суспензія. Групу контролю склали 18 пацієнтів, які отримували стандартну консервативну терапію.

До I (дослідної) групи увійшло 14 пацієнтів – 4 (28,6 %) чоловіків та 10 (71,4 %) жінок, а II (контрольну) групу сформувало 18 пацієнтів, з них 8 (33,3 %) чоловіків та 12 (66,7 %) жінки. Середній вік пацієнтів склав в дослідній $57,3\pm 2,3$ та $58,4\pm 2,8$ роки в контрольній групі.

Мікроскопічні дослідження клінічного матеріалу (біоптати) виразок шкіри (гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні) проведені в динаміці спостереження за пацієнтами на 5 та 14 доби після початку лікування. Зважаючи на те, що всі процеси у клітинах та тканинах щурів відбуваються набагато швидше ніж у людини, такі терміни досліджень відповідають результатам 3–5 та 10–14 доби експерименту на щура.

Клітинний трансплантат «Кріоконсервована пуповинна кров людини» це заморожена при температурі -196°C суспензія клітин, які виділені фракціюванням пуповинної крові на компоненти. Препарат з супроводжувальною документацією транспортувався в закритому автомобілі Товариства з обмеженою відповідальністю «Інститут клітинної терапії» експедитором в ємкостях Дьюара при температур -196°C . Кріоконсервовану клітинну суспензію, отриману з банку пуповинної крові Товариства з обмеженою відповідальністю «Інститут клітинної терапії», зберігали у рідкому азоті при температурі -196°C у кріосховищі «38Kw/Kryos Controler».

Використовували клітинну суспензію з такими параметрами: вміст ядровмісних клітин – від $0,11 \times 10^9$ до $3,7 \times 10^9$, кількість мононуклеарів – 15–60 %, КУО-ГМ – $(50 \pm 10) \times 10^3/\text{мл}$, вміст гемопоетичних клітин, що несуть на своїй поверхні маркери CD34+ CD45+ і CD117+ CD45+, дорівнював відповідно $(0,85 \pm 0,20)$ та $(1,52 \pm 0,39)$ %. Життєздатність клітин – (80 ± 10) %.

Гістологічний та імуногістохімічний аналіз біопсійного матеріалу виконували на базі лабораторії патоморфології Буковинського державного медичного університету МОЗ України.

З метою виявлення колагенового каркасу та оцінки зрілості фіброзної (сполучної) тканини проводилося гістологічне дослідження отриманих біоптатів. Для цього біопсійний матеріал фіксували 48–72 годин в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну, після парафінової заливки на санному мікротомі MC-2 одержували гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Гістологічні препарати зафарбовували за методикою Н. З. Слінченко («хромотроп 2В» – «водний блакитний» після протравки фосфорно-вольфрамовою кислотою).

Окрім того, біоптати м'язової тканини досліджували за допомогою імуногістохімічного аналізу, що дозволило достатньо ґрунтовно простежити етапи стимульованого ангіогенезу. Нами за допомогою імуногістохімічних методів був досліджений один з маркерів ангіогенезу, фактор Віллебранда непрямым стрептавидін-пероксидазним методом виявлення рівня експресії антигенів. Білок віментин досліджували непрямым стрептавидін-пероксидазним методом виявлення рівня експресії антигенів.

Пацієнтам обох груп на 5-у, 14-у та 28-у добу після початку лікування та трансплантації стовбурових клітин кордової крові проводились заміри діаметру та об'єму трофічної виразки для визначення індексу швидкості загоєння за формулою Попової у модифікації Гірка Е. І., Кравцова Є. А. (патент України на корисну модель №68649 «Спосіб визначення швидкості загоєння ран»).

В нашій роботі ми використовували міжнародну комплексну флебологічну класифікацію CEAP, яка була прийнята експертами міжнародної узгоджувальної групи на конференції організованій Американським венозним Форумом в лютому 1994 р. Всі пацієнти, включені у дослідження, з відкритою венозною виразкою відносяться до останньої, шостої клінічної стадії і кодуються як С6.

Усім пацієнтам обох груп перед початком лікування та після трансплантації стовбурових клітин кордової крові, на 5, 10 та 14 добу, проводили оцінку інтенсивності болю за десятибальною цифровою

рейтинговою шкалою. На бланку для оцінки болю розміщувалися дві рівномасштабні шкали: візуально-цифрова, мімічна – візуально-аналогова шкала. Для оцінювання якості життя пацієнтів із хронічними трофічними виразками обрано шкалу CIVIQ-20 (CIVIQ-20 – Chronic Venous Insufficiency Questionnaire).

Опитувальник складався із 20 запитань, що давали змогу оцінити ступінь обмеження якості життя, пов'язаний із венозною недостатністю та наявністю трофічних виразок, за чотирма напрямками: фізичний (запитання №5, 6, 7 та 9), психологічний (запитання № 12–20), соціальний (запитання № 8, 10 та 11) та больовий (запитання № 1, 2, 3 та 4). У частині питань, що характеризували фізичну складову якості життя, діапазон балів – від 4 (мінімальна кількість) до 20 (максимальна кількість); психологічну складову – від 9 до 45 балів; соціальну – від 3 до 15; виразність болю – від 4 до 20. Загальний бал, що дорівнював 20, свідчив про найкращий результат щодо якості життя, а той, що дорівнював 100, – найгірший.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакета прикладних статистичних програм SPSS for Windows 10.0 та STATISTICA 10. Використовували наступні методи статистичного аналізу. Перевірку рівності генеральних дисперсій – за допомогою критерій Фішера. Порівняння двох незалежних груп з кількісними ознаками за умови нормального (Гауссового) розподілення ознак у групах за допомогою класичного t-критерію Ст'юдента для незалежних груп. При розподіленні ознак відмінних від нормальних у групах та/або при наявності груп з різними дисперсіями – використовували непараметричний критерій Манна-Вітні. Дані в таблицях представлені у вигляді $M \pm m$, де M – середня, m – похибка середньої. Ймовірність достовірності нульової гіпотези приймали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

При дослідженні гістологічних особливостей виразки шкіри у щурів на третю добу експерименту встановлено, що виразки мають неоднакову глибину в різних ділянках, зокрема, по краям дефекти неглибокі. Це повні дефекти багатошарового плоского епітелію із частковим захопленням сполучної тканини дерми з руйнуванням колагенових волокон, але не глибше за рівень залягання потових залоз. Крововиливів в цих місцях не відмічається. Ближче до центра та в центральних частинах виразкові дефекти досягають місцями клітковину, при цьому потові та сальні залози, волосяні фолікули по ходу дефектів повністю зруйновані, в цих місцях відмічаються крововиливи. Навколо них розміщуються окремі клітини круглястої форми (типу лімфоїдних). Такі ж клітини у невеликій кількості розміщуються у підлеглих м'язах. Проте клітини типу лімфоїдних відсутні у клітковині. На серійних зрізах при постановці імуногістохімічної методики на віментин, видно, що вказані клітини мають слабе забарвлення, переважно в 1 бал ($p < 0,05$) за чотирибальною шкалою (від 0 до 3 балів), що може свідчити про відношення

цих клітин до класу поліпотентних. Дно виразок на всьому протязі представлено однорідними масами по типу фібриноїдного некрозу.

При виконанні імуногістохімічної методики на фактор Віллебранда, в цей період позитивного забарвлення не виявлено. У тварин другої групи на 3-ю добу експерименту картина аналогічна. При дослідженні матеріалу на п'яту добу експерименту встановлено, що характеристика форми і розмірів виразкових дефектів аналогічна третій добі експерименту, однак, з'являються й нові особливості. Зокрема, по контуру виразкового дефекту видно, що частина дрібних кровоносних судин некротизована та просочена фібрином, кількість лімфоїдних клітин біля дна виразки зростає, вони розташовується вже чітким валом ($p < 0,05$). Також дещо зростає число таких клітин у підлеглих м'язах. Імуногістохімічна методика на віментин проявляє гетерогенне забарвлення цих клітин – від 1 до 3 балів, що, вірогідно, вказує на те, що частина з них диференціюється в звичайні клітини фіброзної тканини. З'являються окремі фібробласти – клітини веретеноподібної форми з видовженим ядром, що підтверджує наявність процесів диференціювання поліпотентних клітин у сполучнотканині. Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда дозволила виявити невеликі компактні групки позитивно забарвлених клітин, які слід оцінити як осередки ангиогенезу (початок утворення нових кровоносних судин), що також позитивно впливає на процес регенерації. У щурів, яким вводили стовбурові клітини на 5-у добу експерименту характеристика форми і розмірів виразкових дефектів аналогічна описаній, але відмічені й суттєві відмінності ($p < 0,05$).

Так, по контуру виразкового дефекту не знайдено судин з некротичними явищами і просяканням фібрину, що слід оцінити як позитивний ефект, який сприяє загоєнню виразки. Вал лімфоїдних клітин також присутній, але він у 2–3 рази потужніший. Лімфоїдні клітини у середньому більш диференційовані, на що вказує більший ступінь імуногістохімічного забарвлення на віментин.

Ще слід відмітити, що лімфоїдні клітини густо інфільтрують і периульцерозну клітковину. Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда дозволила виявити компактні групки позитивно забарвлених клітин, причому вони більш крупних розмірів та більш інтенсивно забарвлені, що можна розцінити, як більш активний ангиогенез, у порівнянні з групою тварин, яким не вводили стовбурові клітини ($p < 0,05$). На 10-ту добу експерименту характерною відмінністю від 5-ї доби експерименту є те, що кількість лімфоїдних клітин продовжує зростати як по контуру виразки, так і в підлеглих м'язах. У тварин, яким вводили стовбурові клітини, присутність лімфоїдних клітин і надалі є більш потужною ($p < 0,05$). Ступінь диференціювання цих клітин згідно імуногістохімічної методики на віментин зростає, що більше виражено у щурів, яким вводили стовбурові клітини. Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда не виявила позитивних об'єктів, що вказує на те, що до 10-ї доби у щурів при експериментальній виразці ангиогенез припиняється. На 14-ту добу експерименту в порівнянні з 10-ю добою експерименту помітної динаміки не відмічено.

На 21-шу добу експерименту виразкові дефекти в першій групі тварин

загоїлися і вкриті багат шаровим плоским епітелієм. Місце колишньої виразки заміщено рубцевою тканиною з великою кількістю колагенових волокон, але рубцева тканина ще не сформована до кінця, адже містить велику кількість фібробластів та кровоносних судин. При порівнянні щурів, яким вводили стовбурові клітини з тими щурами, яким не вводили цих клітин, можна відмітити, що в останніх ступінь зрілості рубцевої тканини є нижчим, що проявляється в більшому питомому об'ємі кровоносних судин ($12 \pm 0,6$ проти $8 \pm 0,4$ %), але меншому питомому об'ємі колагенових волокон ($10 \pm 1,2$ проти $38 \pm 2,4$ %) ($p < 0,05$). Віментин-позитивні клітини переважно мають фібробластне диференціювання.

На 25-ту добу експерименту в порівнянні з 21-ю добою експерименту помітної динаміки не відмічено. Експериментально сформовані виразкові дефекти в контрольній групі тварин зменшились в об'ємі, деякі загоїлися повністю. У дослідній групі тварин виразкові дефекти загоїлись у 100 % випадків ($p < 0,05$).

ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ

При дослідженні гістологічних особливостей центральних відділів виразки шкіри пацієнтів контрольної групи (18 осіб) на п'яту добу після початку лікування встановлено, що поверхня дна виразок на всьому протязі вкрита однорідними масами по типу фібриноїдного некрозу. Товщина поверхневого фібриноїдного некрозу сильно коливається від пацієнта до пацієнта, але всі основні морфологічні риси некротичних мас зберігаються у всіх пацієнтів в рівній мірі – місця, які дають позитивне червоне забарвлення на фібрин рівномірно перемішані з уламками клітин, на що вказує «ядерний пил» – результат розпаду клітинних ядер на фрагменти в результаті каріопікнозу ($p < 0,05$). Колагенові волокна в осередках фібриноїдного некрозу або не спостерігаються, або їх іноді видно у вигляді невеликих фрагментів неправильної форми.

Виразкові дефекти в різних пацієнтів контрольної групи мають змінну глибину, місцями досягають клітковину, при цьому потові та сальні залози, волосяні фолікули по ходу дефектів повністю зруйновані, в цих місцях відмічаються крововиливи та молода грануляційна тканина, в якій у великій кількості розміщуються клітини круглястої форми (типу лімфоїдних), окремі поліморфноклітинні лейкоцити та відмічаються тонкостінні кровоносні судини, які розподілені нерівномірно ($p < 0,05$).

Такі ж лімфоїдні клітини, які були відмічені в грануляційній тканині у невеликій кількості розміщуються в клітковині за межами грануляційної тканини, іноді їх концентрація є підвищеною і тому присутність цих клітин стає доволі помітною ($p < 0,05$).

При постановці імуногістохімічної методики на віментин на серійних зрізах у пацієнтів з контрольної групи, видно, що лімфоїдні клітини грануляційної тканини мають слабе забарвлення інтенсивністю переважно в

один бал за чотирибальною шкалою (від 0 до 3 балів), що може свідчити про відношення цих клітин до класу поліпотентних (стовбурових).

Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда у пацієнтів контрольної групи в грануляційній тканині дозволила виявити нерівномірно розкидані невеликі компактні групи позитивно забарвлених клітин, які слід оцінити як осередки новоутворення кровоносних судин, оскільки позитивне забарвлення на фактор Віллебранда у таких накопиченнях клітин можуть давати тільки ендотеліоцити, причому, в грануляційній тканині, як відомо, утворюються лише кровоносні судини, а не лімфатичні ($p < 0,05$).

При дослідженні гістологічних особливостей центральних відділів виразки шкіри пацієнтів основної групи (14 осіб) на п'яту добу після початку лікування встановлені відмінності від контрольної групи ($p < 0,05$).

Зокрема, хоч поверхня дна виразок на всьому протязі вкрита однорідними масами по типу фібриноїдного некрозу і його товщина також коливається від пацієнта до пацієнта, тим не менш видно, що в цілому маси фібриноїдного некрозу виражені візуально у три рази менше, ніж в контрольній групі, але найголовніше – вони весь час чергуються з «прожилками», які складаються з клітин типу лімфоїдних ($p < 0,05$).

Окрім того, у пацієнтів основної групи на п'яту добу після початку лікування під покривом фібриноїдного некрозу в грануляційній тканині крововиливи траплялись дуже зрідка в порівнянні з контрольною групою дослідження, а сама грануляційна тканина була більш рівномірно вповнена лімфоїдними клітинами та тонкостінними кровоносними судинами ($p < 0,05$).

Ще однією відмінністю основної групи від контрольної було те, що лімфоїдні клітини в клітковині біля виразок за межами грануляційної тканини розташовувалися рівномірно, а не окремими осередками більшої концентрації, отже, їх у цілому було значно більше ($p < 0,05$).

Застосування імуногістохімічної методики на віментин у пацієнтів основної групи дослідження показало в цілому ті ж результати, що і в контрольній групі – лімфоїдні клітини давали слабе забарвлення на віментин, однак, варто зауважити, що ці клітини розташовувалися по грануляційній тканині більш рівномірно серед більшої кількості кровоносних судин

Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда у пацієнтів основної групи так само, як і у пацієнтів контрольної групи, у грануляційній тканині дозволила виявити нерівномірно розкидані невеликі компактні групи позитивно забарвлених клітин, які слід оцінити як осередки новоутворення кровоносних судин. Відмінністю від контрольної групи було те, що ці острівки були більш рівномірно розподілені серед кровоносних судин грануляційної тканини ($p < 0,05$).

Отже, можна зробити висновок, що в пацієнтів у основній групі у порівнянні з контрольною групою спостерігається низка позитивних змін вже на 5-ту добу спостереження – відмічається більш рівномірний характер розвитку грануляційної тканини в плані більш рівномірного розподілу лімфоїдних клітин та кровоносних судин, більша присутність лімфоїдних клітин, менший рівень розвитку фібриноїдного некрозу з переривчастим його

характером ($p < 0,05$). що може сприяти більш швидкому загоєнню виразкового дефекту за рахунок швидкості звільнення від некротичних мас, рівномірності формування рубця, що разом повинно сприяти епітелізації виразкового дефекту.

На 14-ту добу клінічного дослідження в пацієнтів контрольної групи дослідження відмічалася майже повна відсутність фібриноїдного некрозу (відмічалися лише невеличкі осередки некрозу неправильної форми), а грануляційна тканина містила лімфоїдні клітини та фібробласти приблизно у рівному співвідношенні та кровоносні судини, які розташовувалися нерівномірно ($p < 0,05$).

Методика фарбування колагенових волокон хромотропом-водним-блакитним за методом Н. З. Слінченка показала, що формування колагенових волокон було нерівномірним – відмічалися осередки слабкого утворення колагенових волокон, які чергувалися з ділянками великої концентрації колагенових волокон з сильним забарвленням колагену ($p < 0,05$).

В осередках слабкого формування колагенових волокон можна було спостерігати більшу відносну кількість лімфоїдних клітин (понад 50%) та кровоносних судин ($p < 0,05$).

При імуногістохімічному дослідженні на віментин виявлено, що лімфоїдні клітини були як зі слабким забарвленням, так і з забарвленням середньої або навіть високої інтенсивності, а веретеноподібні клітини типу фібробластів переважно мали інтенсивне позитивне забарвлення на віментин. Ендотелій кровоносних судин також інтенсивно забарвлювався на віментин. Розподіл вказаних типів клітин був помітно нерівномірним ($p < 0,05$).

При імуногістохімічному дослідженні на фактор Віллебранда на 14-ту добу у пацієнтів контрольної групи позитивне забарвлення було виявлено лише в ендотеліоцитах кровоносних судин, при цьому його інтенсивність була доволі нерівномірною. Як правило, більш інтенсивне позитивне забарвлення на фактор Віллебранда відмічалася у судинах більш великого калібру, хоча така закономірність спостерігалася не у всіх кровоносних судинах, іноді були судини більшого калібру з менш інтенсивним забарвленням в ендотеліоцитах, або дрібні судини з більш інтенсивним забарвленням в ендотеліоцитах.

У пацієнтів основної групи, на відміну від пацієнтів контрольної групи, на 14-ту добу клінічного дослідження відмічалася повна відсутність фібриноїдного некрозу, грануляційна тканина містила лімфоїдні клітини та фібробласти, причому останні завжди переважали у відносних значеннях над лімфоїдними клітинами. Кровоносні судини розподілялися більш рівномірно по грануляційній тканині в порівнянні з пацієнтами контрольної групи ($p < 0,05$). При цьому, питома вага кровоносних судин в основній групі була нижчою ($11 \pm 0,8$ %), ніж в контрольній групі ($16 \pm 0,7$ %), що вказує на більшу зрілість грануляційної тканини пацієнтів контрольної групи по параметру масиву кровоносних судин ($p < 0,05$).

Методика фарбування колагенових волокон хромотропом-водним-блакитним за методом Н. З. Слінченка показала, що у пацієнтів основної групи формування колагенових волокон було більш рівномірним у порівнянні

з пацієнтами контрольної групи, хоча були й місця різко підсиленої колагенізації, при цьому в середньому відмічалася дещо більша питома вага колагенових волокон, зокрема, в основній групі цей параметр у середньому становив $34 \pm 2,8$ %, а в контрольній – $15 \pm 1,9$ %, що вказує на більшу зрілість грануляційної тканини в пацієнтів основної групи ($p < 0,05$).

При імуногістохімічному дослідженні на віментин встановлено, що в основній групі, як і в контрольній, лімфоїдні клітини були як зі слабким забарвленням, так і з забарвленням середньої або навіть високої інтенсивності, а веретеноподібні клітини типу фібробластів переважно мали інтенсивне позитивне забарвлення на віментин. Ендотелій кровоносних судин також інтенсивно забарвлювався на віментин. Відмітним є те, що розподіл вказаних типів клітин був більш рівномірним, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$).

При імуногістохімічному дослідженні на фактор Віллебранда на 14-ту добу в пацієнтів основної групи позитивне забарвлення, як і у пацієнтів контрольної групи, виявлено лише в ендотеліоцитах кровоносних судин, при цьому його інтенсивність була рівномірною і в середньому значно більш вираженою, ніж в групі контролю ($p < 0,05$). Це можна розцінити, як більш рівномірне і більш повноцінне дозрівання грануляційної тканини за параметром зрілості ендотелію кровоносних судин.

Отже, і на 14-добу клінічного дослідження в дні виразки в основній групі спостерігаються морфологічні ознаки кращого дозрівання грануляційної тканини, що видно як за більш рівномірними і та інтенсивними процесами формування колагенових волокон (збільшення питомого об'єму колагенових волокон) та кровоносних судин (зменшення питомого об'єму кровоносних судин), так і за процесами дозрівання лімфоїдних (поліпотентних) клітин у фібробласти з більш повноцінною продукцією віментину та ендотеліоцитів з більш повноцінною продукцією фактору Віллебранда в них. Також варто уваги й більш повне розсмоктування мас фібриноїдного некрозу в основній групі спостереження у порівнянні з контрольною групою пацієнтів ($p < 0,05$), що також неодмінно має сприяти більш швидкому і повноцінному загоєнню виразки.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що процес загоєння у пацієнтів дослідної групи розпочинався з перших діб після трансплантації зі зменшення периульцелярного набряку та запальної гіперемії м'яких тканин навколо виразки. Зменшення ексудації ранової поверхні відбувалось вже з 3-ї доби, коли в групі контролю фаза ексудації продовжувалась до 7–10 доби лікування. Появу активних грануляцій на дні виразкових дефектів бачили вже з 5-ї доби у пацієнтів, що перенесли трансплантацію стовбурових клітин кордової крові.

РЕЗУЛЬТАТИ ПЛАНІМЕТРИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Окрім проведення гістологічних та імуногістохімічних досліджень, пацієнтам обох груп проведено планіметричні розрахунки, а саме: на 5-у, 14-у та 28-у добу після трансплантації в групі дослідження та після початку базисної

терапії в групі контролю, пацієнтам проводили заміри діаметру та об'єму трофічної виразки для визначення індексу швидкості загоєння за формулою Попової у модифікації Гірка Е. І., Кравцова Є. А. (Патент України на корисну модель № 68649 «Спосіб визначення швидкості загоєння ран»).

В результаті проведеного дослідження встановлено, що процес загоєння у пацієнтів дослідної групи розпочинався з перших діб після трансплантації зі зменшення периульцелярного набряку та запальної гіперемії м'яких тканин навколо виразки. Зменшення ексудації ранової поверхні відбувалось вже з 3-ї доби, коли в групі контролю фаза ексудації продовжувалась до 7–10 доби лікування. Появу активних грануляцій на дні виразкових дефектів бачили вже з 5-ї доби у пацієнтів, що перенесли трансплантацію стовбурових клітин кордової крові ($p < 0,05$).

Аналогічну картину у пацієнтів з базисною терапією спостерігали лише після 14-ї доби. Протягом перших 7–10 діб після трансплантації, завдяки стимуляції власних регенеративних можливостей організму, об'єм трофічних виразок значно зменшувався (рис. 1).



Рис. 1. Макрофотографія. Динаміка загоєння трофічної виразки у пацієнта групи дослідження після застосування клітинної суспензії кордової крові: А – 5-а доба; Б – 14 доба; В – 28-а доба.

У пацієнтів контрольної групи загоєння відбувається набагато повільніше з формуванням грубої нееластичної рубцевої тканини та збереженням «мінус тканини». Звертає на себе увагу той факт, що у пацієнтів дослідної групи майже не залишається «мінус тканини», грануляції спочатку активно наростають, піднімаючи дно виразки до рівня дерми. Далі процес загоєння, в основному, відбувався за рахунок крайової епітелізації, аж до повного загоєння виразок.

Також слід відмітити значне зменшення больового синдрому у пацієнтів після трансплантації. Вираженість больового синдрому в обох групах була 5,3–5,5 бали ($p < 0,05$). В основній групі вже на 5 добу після запропонованого лікування відзначаємо зниження інтенсивності болю на 2,4 бала, на 10 добу – на 4,3 бала, а на 14 добу – на 5,1 бала порівняно з контрольною групою, де зменшення інтенсивності больового синдрому на 5 добу бачимо лише на 0,6 бала, на 10 добу – на 1,5 бала, на 14 добу – на 2,3 бала відповідно ($p < 0,05$), що супроводжується значно меншою потребою у знеболюючих препаратах використаних в період стаціонарного лікування.

Індекс швидкості загоєння виразкового дефекту у пацієнтів груп I та II

різниця протягом усього періоду спостереження, зокрема у пацієнтів після трансплантації стовбурових клітин кордової крові на 5-у добу спостереження був у 2,4 рази вище, ніж у пацієнтів, яким проводилась стандартна консервативна терапія. Також слід відмітити, що даний індекс швидкості був майже однаковим протягом всього періоду у пацієнтів групи II, на відміну від групи I, де швидкість одразу була вища та зростала до 5-ї та 14-ї доби, а потім поступово падала до 28-ї доби ($p < 0,05$).

Позитивний ефект від трансплантації стовбурових клітин кордової крові на якість та швидкість загоєння венозних трофічних виразок вбачаємо у впливі на різні ланки патогенезу розвитку виразкового ефекту, а саме: покращення мікроциркуляції за рахунок нормалізації функції ендотелію, створення бар'єру стовбуровими клітинами для виходу формених елементів крові, стимуляція ангіогенних процесів, вплив факторів росту клітин на процеси загоєння трофічної виразки.

ЯКІСТЬ ЖИТТЯ ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМИ ТРОФІЧНИМИ ВИРАЗКАМИ ВЕНОЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

Для оцінювання якості життя пацієнтів із хронічними трофічними виразками обрано шкалу CIVIQ-20. Аналіз отриманих результатів показав, що в основній групі показник якості життя дорівнював $76,9 \pm 6,36$ бала, у контрольній групі отриманий результат $-31,4 \pm 2,16$ бали ($p < 0,05$).

Отже, наявність хронічної венозної недостатності, погіршує якість життя пацієнтів майже у 2,4 рази. Найбільше проблем в осіб основної групи пов'язано із підніманням сходинами. Ці хворі соромляться показувати ноги, ходити на прогулянки, весілля, вечірки, фуршети тощо, почуваються скуто. Також вони відзначають утруднення рухів уранці. Щодо фізичної складової, то мінімальну кількість балів (12) набрали 4 (12,5 %) хворих, максимальну (17 балів) – теж такий ж відсоток пацієнтів ($p < 0,05$). Пацієнти наголошували, що їм важко довго стояти й необхідно приймати вимушену позу. Крім зазначених скарг, хворі відзначали порушення нічного сну з огляду на біль у ногах. Усе перелічене істотно впливало на якість життя. У соціальній категорії мінімальну кількість балів (12) зафіксовано у (9,4 %) хворих, що вказує, що хронічна венозна недостатність значно погіршує соціальну активність хворих, а саме лімітує подорожування транспортом та відвідування різних вечірок, фуршетів тощо ($p < 0,05$).

Більшість опитаних почувалися нещасними і вважали, що через свою хворобу заважають спокійно жити своїм родичам, обтяжують їх тощо. Також вони дуже швидко втомлювалися і ставали дратівливими. У психологічній категорії основної групи сума балів перевищувала показник контролю у 2,4 рази ($p < 0,05$). Через дефекти шкірних покривів на нижніх кінцівках хворі, що брали участь в опитуванні, не можуть ходити в людні місця, тому що відчують себе невпевнено й дуже соромляться своєї недуги.

У частині питань, що характеризують виразність болю, переважали пацієнти із сильним та дуже сильним болем, що істотно впливало на загальний

показник якості життя. Для проведення оцінки якості життя пацієнта анкетування проводили до трансплантації стовбурових клітин кордової крові, через 1 та 6 місяців після трансплантації.

Отримані результати опитування хворих в динаміці лікування показали, що через місяць виразність болю у пацієнтів дослідної групи зменшилася на 25 %, в той час як у групі контролю на 11,5 % ($p < 0,05$). Аналіз показників через місяць показав, що аналогічний показник зменшився ще на 27,9 % ($p < 0,05$) та 11,9 % відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

**Характеристика якості життя в основній та контрольній групах
у динаміці лікування**

Показник	І група		
	до лікування	1 місяць	6 місяців
Виразність болю, бали	15,43±1,79	11,5±1,02	8,29±0,73*/**
Фізична складова, бали	14,79±1,72	12,14±1,17	9,5±0,65*/**
Психологічна складова, бали	33,79±4,74	24,36±3,2	17,36±2,06*/**
Соціальна складова, бали	13,21±0,43	10,36±0,63	7,64±0,84*
Загальний бал, бали	77,21±7,34	58,36±5,05	42,79±3,45*
	II група		
Виразність болю, бали	15,12±1,82	13,38±1,24	11,78±0,73
Фізична складова, бали	15,1±1,69	12,78±0,89	12,11±0,47
Психологічна складова, бали	33,56±3,59	25,5±2,26	24,55±1,40
Соціальна складова, бали	12,94±0,59	10,33±0,49	10,17±0,77
Загальний бал, бали	76,67±5,69	62±3,46	57,61±4,29

Примітки: * – вірогідність різниць показників в динаміці лікування ($p < 0,05$); ** – вірогідність різниць з показниками II групи ($p < 0,05$).

Запропонований спосіб лікування із застосування трансплантації стовбурових клітин кордової крові зумовив покращання фізичної складової якості життя хворих. Так, через місяць показник знизився у досліджуваній групі на 17,9 %, а піврічний результат додав до заданої тенденції ще 21,7 % ($p < 0,05$), на відміну показникам 14,8 та 5,2 % з наявністю достовірної міжгрупової різниці.

Оцінка психологічної складової якості життя дала змогу зробити висновок, що запропонований спосіб ведення хворих зумовив покращання психологічного стану хворих у піврічному підсумку на 48,6 та 26,8 % відповідно, з наявністю достовірної міжгрупової різниці ($p < 0,05$), що проявлялося зменшенням тривожності та дратівливості хворих, та, в загальному підсумку поліпшив якість життя.

Порівняльна характеристика показників соціальної складової продемонструвала, що через місяць методика трансплантації стовбурових клітин кордової крові сприяла покращанню показника на 21,6 % у дослідній та 20,2 % у контрольній, а через 6 місяців ще на 26,3 % та близько 2 % відповідно ($p < 0,05$). Якщо пацієнти дослідної групи вказували, що на значне полегшення у

виконанні роботи по дому, обмеження щодо займання спортом залишалися ще для пацієнтів обох груп.

Порівняльний аналіз загальної оцінки якості життя через місяць після лікування показав покращання показника на 24,4 % у групі хворих, яким проводилась трансплантація клітин кордової крові та 19,1 % у групі контролю ($p < 0,05$).

Оцінка віддалених наслідків лікування у шестимісячний термін показала, що вищевказаний показник покращився на 44,6 % у дослідній та на 24,9 % у контрольній групі. Крім того, обстежені 12 (85,7 %) обстежених пацієнтів I групи зазначали, що навіть при збереженні деяких симптомів зменшуються їх суб'єктивні прояви та покращується відчуття. Усе це сприяло підвищенню оцінки якості життя хворих з трофічними виразками нижніх кінцівок, що були проліковані за запропонованою нами методикою.

Таким чином опитувальник CIVIQ-20 є специфічним до моніторингу динаміки клінічних, фізичних, психологічних та соціальних аспектів якості життя хворих з трофічними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються. Хворі, проліковані за допомогою запропонованої методики показали достовірно виражене покращання усіх складових якості життя, зокрема з максимальним досягненням результату у виразності больового синдрому та соціальній складовій.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та новий підхід у вирішенні наукового завдання лікування хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології шляхом трансплантації клітин кордової крові за допомогою експериментальних, клінічних, імуногістохімічних, морфологічних та статистичних досліджень.

1. Розроблено експериментальну модель трофічної виразки кінцівки, що поєднана з венозною гіпертензією, та встановлено, що процеси відновлення та загоєння виразкового дефекту прискорюються після трансплантації клітин кордової крові на 5-у добу експерименту та призводять до повної регенерації дефекту до 28-ої доби.

2. Імуногістохімічні дослідження репаративних процесів в тканинах кінцівки зони ураження після трансплантації клітин кордової крові підтвердили процеси диференціювання поліпотентних клітин у сполучнотканинні та осередки активного ангиогенезу порівняно з групою тварин, яким не вводили стовбурові клітини.

3. Морфологічні зміни тканин вказують на вищий ступінь зрілості рубцевої тканини, що проявляється в меншому питомому об'ємі кровоносних судин ($8 \pm 0,4$ проти $12 \pm 0,6$ %) та більшому колагенових волокон ($38 \pm 2,4$ проти $10 \pm 1,2$ %) в дослідній групі тварин порівняно з контрольною ($p < 0,05$).

4. У хворих з хронічною венозною виразкою на 14-добу після трансплантації клітин кордової крові на дні виразки спостерігали морфологічні ознаки кращого дозрівання грануляційної тканини, а саме збільшення питомого

об'єму колагенових волокон $34 \pm 2,8$ % та зменшення питомого об'єму кровоносних судин $11 \pm 0,8$ %, повноцінну продукцію віментину у фібробластах, фактору Віллебранда в ендотеліоцитах, повне розсмоктування мас фібриноїдного некрозу.

5. Трансплантація клітин кордової крові сприяє загоєнню трофічних виразок нижніх кінцівок (індекс загоєння у 2,4 рази вище в основній групі) за рахунок зменшення ексудації ранової поверхні, стимуляції росту грануляційної тканини, крайової епітелізації, що призводить до значного зменшення та повного зникнення больового синдрому за візуально-цифровою шкалою болю.

6. Після трансплантації клітин кордової крові у пацієнтів з трофічними венозними виразками досягнуто достовірне підвищення показників якості життя за опитувальником CIVIQ-20 через місяць на 24,4 та на 44,6 % в шестимісячний термін.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою підвищення ефективності лікування хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології, з часом існування виразкового дефекту більше 2-х років, доцільно доповнити базисну терапію трансплантацією суспензії клітин кордової крові пункційно під виразку.

2. Аналіз ефективності лікування пацієнтів з трофічними венозними виразками рекомендовано проводити з використанням планіметричного індексу швидкості загоєння ранового дефекту та показників якості життя за опитувальником CIVIQ-20 через 1 та 6 місяців.

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 проаналізовано вітчизняну та закордонну літературу щодо характеристик кордової крові, підготовлено статтю до друку).*

2. Домбровський Д. Б., **Оліник Ю. В.**, Максим'юк В. В. Гістологічні особливості процесу регенерації трофічних розладів венозної етіології за умов використання клітинної трансплантації в експерименті. Буковинський медичний вісник. 2015. Т. 19. №2(74). С. 66–69. *(Здобувачем проведено експериментальне дослідження, збір матеріалу, його аналіз та підготовка статті до друку).*

3. Домбровський Д. Б., **Оліник Ю. В.**, Давиденко І. С. Морфологічні особливості регенерації трофічної виразки венозного генезу при застосуванні стовбурових клітин кордової крові в експерименті. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2018. №22(3). С. 412–416. *(Здобувачем проведено експериментальне дослідження, збір матеріалу, його аналіз та підготовка статті до друку).*

**Статті у наукових фахових виданнях України,
включені до міжнародних наукометричних баз даних:**

4. 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 самостійно здійснювались аналіз літератури, його узагальнення та підготовка статті до друку).*

5. **Оліник Ю. В.**, Домбровський Д. Б., Давиденко І. С. Морфологічний стан трофічних виразок венозної етіології після трансплантації стовбурових клітин кордової крові. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021. Т. 6. № 1(29). С. 37–45. *(Здобувачем самостійно здійснювались аналіз літератури, підбір хворих, самостійно проводились трансплантації стовбурових клітин кордової крові, узагальнення результатів, підготовка статті до друку).*

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

6. Olinik Yu. V. Quality of life of patients with chronic trophic ulcers of venous etiology. Journal of Education, Health and Sport. 2020. Vol. 10(12). P. 270–277. *(Здобувачем самостійно здійснювались аналіз впливу трансплантації стовбурових клітин кордової крові на якість життя пацієнта, статистична обробка, узагальнення результатів та підготовка статті до друку).*

Статті у інших наукових виданнях України:

7. Домбровський Д. Б., Салютін Р. В., **Оліник Ю. В.**, Ільчишин М. В. Гістологічні та імуногістохімічні особливості утворення трофічних виразок венозної етіології в експерименті. Клінічна флебологія. 2013. №6(1). С. 74–77. *(Здобувачем проведено експериментальне дослідження, збір матеріалу, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка статті до друку).*

8. Домбровський Д. Б., Давиденко І. С., **Оліник Ю. В.**, Ільчишин М. В. Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках. Клінічна флебологія. 2014. №7(1). С. 149–150. *(Здобувачем проведено експериментальне дослідження, збір матеріалу, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка статті до друку).*

9. Домбровський Д. Б., **Оліник Ю. В.** Клітинна трансплантація при трофічних розладах тканин кінцівок на тлі венозної гіпертензії в експерименті. Клінічна флебологія. 2015. №8(1). С. 93–94. *(Здобувачем проведено експериментальне дослідження, збір матеріалу, статистична обробка, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка статті до друку).*

10. Домбровський Д. Б., Салютін Р. В., **Оліник Ю. В.** Трансплантація клітин кордової крові при венозних трофічних розладах тканин кінцівок в експерименті та клініці. Клінічна флебологія. 2016. №9(1). С. 70–71.

(Здобувачем проведено експериментальне дослідження, збір матеріалу, підбір хворих, узагальнення отриманих результатів, підготовка статті до друку).

11. Домбровський Д. Б., **Оліник Ю. В.** Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». 2020. №1(61). С. 34–37. *(Здобувачем самостійно здійснювались аналіз літератури, підбір хворих, проводились трансплантації стовбурових клітин кордової крові, узагальнення результатів, підготовка статті до друку).*

12. Домбровський Д. Б., **Оліник Ю. В.** Спосіб лікування трофічних виразок венозного генезу за допомогою трансплантації клітин кордової крові. Раціональна пропозиція. № 6/21. 26.01.2021 року. Чернівці, БДМУ. *(Здобувачем самостійно проводилась трансплантація стовбурових клітин кордової крові та підготовка матеріалу).*

Тези наукових доповідей:

13. Голик Р. І., **Оліник Ю. В.**, Лазарук О. В. Використання стовбурових клітин кордової крові при трофічних розладах тканин кінцівок за умов венозної гіпертензії в експерименті. Bukovinian International Medical Congress (BIMCO), м. Чернівці, 8–10 квітня 2015 року: тези доповіді. Чернівці, 2015. С. 403. *(Здобувачем самостійно проводилось експериментальне дослідження та забір матеріалу).*

14. **Olinik Yu.**, Olinik O. Cell transplantation of cord blood in patients with the extremities trophic disorders of venous etiology. International medical students Congress Sarajevo (SAMED); Sarajevo, February 4–7, 2016: abstracts book. Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 2016. P. 56. *(Здобувачем самостійно здійснювались аналіз літератури, підбір хворих, проводились трансплантації стовбурових клітин кордової крові, узагальнення результатів).*

15. **Olinik Yu.**, Dombrovskiy D., Olinik O. Experimental and clinical studies of the cord blood cell transplantation in venous trophic tissues disorders of the extremities. 39th International Medical Scientific Congress, 7–10 May, 2016: abstracts book. Ohrid, Macedonia, 2016. P. 92. *(Здобувачем самостійно здійснювались аналіз літератури, підбір хворих, проводились трансплантації стовбурових клітин кордової крові, узагальнення результатів).*

16. Домбровський Д. Б., **Оліник Ю. В.**, Давиденко І. С. Трансплантація стовбурових клітин кордової крові в комплексному лікуванні пацієнтів з трофічними венозними виразками, що довго не загоюються. Сухаревські читання – ангіологія та судинна хірургія сьогодні: Конгрес асоціації судинних хірургів, флебологів та ангіологів України, м. Київ, 11–12 квітня 2019 року: тези доповіді. Клінічна флебологія. 2019. №11(1). С. 34 *(Здобувачем самостійно проводився підбір хворих, трансплантації стовбурових клітин кордової крові, узагальнення результатів, підготовка тез до друку).*

АНОТАЦІЯ

Оліник Ю. В. Трансплантація клітин кордової крові в комплексному лікуванні хворих з хронічними трофічними виразками венотної етіології. – 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.

Дисертація присвячена вивченню морфологічних, гістологічних та імуногістохімічних змін у всіх прошарках шкіри, підшкірної клітковини та м'язах на різних етапах розвитку трофічної виразки, що пов'язана з венотною гіпертензією після трансплантації стовбурових клітин кордової крові в експерименті та клініці.

Доведено переваги трансплантації клітин кордової крові в комплексному лікуванні трофічних виразок, що тривало не загоюються, на основі аналізу репаративних процесів в тканинах кінцівки зони ураження, індексу загоєння. Після трансплантації клітин кордової крові на дні виразки спостерігали морфологічні ознаки дозрівання грануляційної тканини, збільшення питомого об'єму колагенових волокон та зменшення питомого об'єму кровоносних судин, повноцінну продукцію віментину у фібробластах, фактору Віллебранда в ендотеліоцитах, повне розсмоктування мас фібриноїдного некрозу.

Трансплантація клітин кордової крові сприяє загоєнню трофічних виразок нижніх кінцівок, що призводить до зменшення та повного зникнення больового синдрому за візуально-цифровою шкалою болю та покращення якості життя пацієнтів за опитувальником Chronic Venous Insufficiency Questionnaire-20 (CIVIQ-20).

Ключові слова: трофічна венозна виразка, кордова кров, комплексне лікування.

АННОТАЦИЯ

Олиник Ю.В. Трансплантация клеток кордовой крови в комплексном лечении больных с хроническими трофическими язвами венотной этиологии. – 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.

Диссертация посвящена изучению морфологических, гистологических и иммуногистохимических изменений во всех слоях кожи, подкожной клетчатки и мышцах на разных этапах развития трофической язвы, связанной с венотной гипертензией после трансплантации стволовых клеток кордовой крови в эксперименте и клинике.

Доказано преимущества трансплантации клеток кордовой крови в комплексном лечении трофических язв, длительно незаживающих, на основе анализа репаративных процессов в тканях конечности зоны поражения, индекса

заживления. После трансплантации клеток кордовой крови на дне язвы наблюдали морфологические признаки созревания грануляционной ткани, увеличение удельного объема коллагеновых волокон и уменьшение удельного объема кровеносных сосудов, полноценную продукцию виментина в фибробластах, фактора Виллебранда в эндотелиоцитах, полное рассасывание масс фибриноидного некроза.

Трансплантация клеток кордовой крови способствует заживлению трофических язв нижних конечностей, что приводит к уменьшению и полному исчезновению болевого синдрома по визуально-цифровой шкале боли и улучшения качества жизни пациентов по опроснику Chronic Venous Insufficiency Questionnaire-20 (CIVIQ-20).

Ключевые слова: трофическая венозная язва, кордовая кровь, комплексное лечение.

ANNOTATION

Olinik Yu. V. Cord blood cell transplantation in the complex treatment of patients with chronic trophic ulcers of venous etiology. – 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 is devoted to the study of morphological changes in all layers of skin, subcutaneous tissue and muscles at different stages of trophic ulcer development associated with venous hypertension, histological and immunohistochemical results of the study of reparative processes in limb tissues in the area of lesion after cord cell transplantation experimentally and clinically, improving the results of treatment of patients with chronic venous insufficiency with trophic ulcers with the use of transplantation of cord blood cells.

Trophic venous ulcers account for more than 70 % of all lower extremity ulcers and occur in one in five patients with chronic venous insufficiency. As a result, there is a high loss of ability to work, ranging from 80 to 100 %, the level of disability up to 3 %. According to the literature, under the influence of conservative therapy lasting up to four months, healing of venous trophic ulcers occurs in only 50 % of cases. After two years of treatment, 20 % of ulcers do not heal, and after five years – 8 % of ulcers. It is known that the development of trophic disorders in the case of chronic venous insufficiency is venous hypertension, which initiates a cascade of pathological reactions at the molecular, cellular and tissue levels. Histopathologists, surgeons and pharmacists are working on predicting the development of the wound process and new methods of healing chronic wounds.

In recent years, scientists have become increasingly attracted to technologies related to the use of cell transplants in various pathological conditions. Today, given the enormous biological value of cord blood, it is considered a source of stem cells compared to bone marrow and peripheral blood. These cells are used to treat a wide range of different diseases due to their ability to differentiate into different cell types and repair cells of damaged or diseased organs and tissues, such as liver, brain, heart,

blood vessels, bones, cartilage, blood, skin and others. The object of the study was decompensated chronic venous insufficiency of the lower extremities (C6 according to CEAR) with a trophic ulcer that does not heal for a long time.

The scientific novelty of the obtained results is to develop a model of trophic ulcer of the limb, combined with venous hypertension, the study of histological and immunohistochemical processes occurring in the area of trophic ulcer on the background of venous hypertension in the experiment. New is the definition of criteria for reparative processes after transplantation of cord blood cells into the affected area and treatment of patients with venous trophic ulcers using cord blood cell transplantation. To achieve this goal used the following research methods: general clinical, anthropometric, laboratory, instrumental, histological, immunohistochemical, statistical. Experimental studies were performed on white rats weighing $240,4 \pm 4,56$ g. Animals were divided into two groups. The first – on the third day after the formation of a trophic ulcer in the muscle tissue under the ulcer was injected cell suspension. The second group of animals – control, a suspension of cord blood cells was not administered.

Collection of material for the study was performed on the 3rd, 5th, 10th, 14th, 21st, 25th day after the introduction of cord blood cells and histological examination of the obtained biopsies, which were stained by the method of Slinchenko and immunohistochemical method for the detection of vimentin (with antibodies to vimentin) and Willebrand factor (with antibodies to Willebrand factor).

The results of the experiment showed that the processes of restoring the integrity and healing of the ulcer defect occur in the experimental model of trophic ulcer, but their severity and activity differ in animals of the experimental and control groups, namely experimentally formed ulcerative defects in the control group of animals decreased significantly. Some healed completely. In the experimental group of animals, ulcerative defects healed in 100 % of cases.

When comparing rats of the first and second groups, it can be noted that in the latter the degree of maturity of scar tissue was lower, which was manifested in a larger proportion of blood vessels ($12 \pm 0,6$ vs. $8 \pm 0,4$ %), but less specific collagen fibers ($10 \pm 1,2$ vs. $38 \pm 2,0$ %). Vimentin-positive cells predominantly had fibroblast differentiation.

For the clinical stage, 32 patients with trophic ulcers of venous etiology that do not heal for a long time were selected. All patients received inpatient treatment in the vascular surgery department of the Chernivtsi Regional Clinical Hospital in the period 2015–2019. The cause of venous insufficiency of these patients was the diagnosis: postthrombophlebitic disease of the lower extremities, C6 by CEAR.

The vast majority of patients in both groups suffered from trophic ulcers only on one limb, but in 5 patients the lesions were removed on both lower extremities. It was found that the localization of wound skin defects in most patients of both groups was on the medial surface of the lower third of the leg and occurred in 21 patients (70 %), and in 6 (20 %) lateral and anterior surfaces of both legs. 5 (10 %) patients had multiple lesions, ie there were several open ulcers of different localization on both legs. According to the treatment received, patients were divided into two groups: study (group I) and control (group II). The study group consisted of 14 patients who

on the background of basic therapy under epidural anesthesia puncture under the ulcer was injected cell suspension. The control group consisted of 18 patients receiving standard conservative therapy.

As a result of the study, it was found that the healing process in patients of the experimental group began in the first days after transplantation with a reduction in periculcellular edema and inflammatory hyperemia of the soft tissues around the ulcer. The reduction of wound surface exudation occurred from the 3rd day, when in the control group the exudation phase lasted up to 7–10 days of treatment. The appearance of active granulations at the bottom of ulcerative defects was seen from the 5th day in patients who underwent transplantation of cord blood stem cells. A similar pattern in patients with basic therapy was observed only after the 14th day. During the first 7–10 days after transplantation, due to the stimulation of the body's own regenerative capabilities, the volume of trophic ulcers decreased significantly. It is noteworthy that patients in the experimental group have almost no "minus tissue", granulation first actively increases, raising the bottom of the ulcer to the level of the dermis, and then the healing process mainly occurred due to marginal epithelialization, until complete healing ulcers. In patients of the control group, healing is much slower with the formation of coarse inelastic scar tissue and the preservation of "minus tissue".

On the 14th day of the clinical study at the bottom of the ulcer in the main group there are morphological signs of better maturation of granulation tissue, which can be seen as more uniform and intense processes of collagen fiber formation (increase in specific volume of collagen fibers) and blood vessels (decrease in specific volume). blood vessels) and the processes of maturation of lymphoid (polypotent) cells into fibroblasts with more complete production of vimentin in them and endothelial cells with more complete production of Willebrand factor.

The rate of ulcer healing rate in patients of groups I and II varied throughout the observation period, in particular in patients after cord blood stem cell transplantation on the 5th day of observation was 2,4 times higher than in patients treated with standard conservative therapy. It should also be noted that this rate index was almost the same throughout the period in patients of group II, in contrast to group I, where the rate was immediately higher and increased until the 5th and 14th day, and then gradually decreased to the 28th age.

We chose the Chronic Venous Insufficiency Questionnaire (CIVIQ) as the basis for assessing the quality of life of patients with trophic ulcers of the lower extremities. To assess the quality of life of the patient, the questionnaire was conducted before surgery, 1 and 6 months after surgery. Patients in group I had a higher assessment of quality of life, because the healing process of the ulcer was faster, the feeling of pain decreased and as a result the patient's psycho-emotional state improved. In addition, the surveyed 12 (85,7 %) surveyed patients of group I noted that even with the preservation of some symptoms, their subjective manifestations are reduced and the feeling is improved. All this helped to improve the assessment of the quality of life of patients with trophic ulcers of the lower extremities, which were treated according to our proposed method.

Key words: trophic venous ulcer, cord blood, complex treatment.

