

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ОЛІНИК ЮРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ

УДК: 616.14-002.44-089.843:611.018.5

ДИСЕРТАЦІЯ

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

14.01.03 «Хірургія»
(медичні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата наук

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

Науковий керівник:
Домбровський Дмитро Борисович,
доктор медичних наук, професор

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Оліник Ю. В. Трансплантація клітин кордової крові в комплексному лікуванні хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.03 «Хірургія». – Буковинський державний медичний університет МОЗ України, Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України, Київ, 2021.

Дисертація присвячена вивченню морфологічних змін у всіх прошарках шкіри, підшкірної клітковини та м'язах на різних етапах розвитку трофічної виразки, що пов'язана з венозною гіпертензією, гістологічних та імуногістохімічних результатів дослідження репаративних процесів в тканинах кінцівки в зоні ураження після трансплантації клітин кордової крові в експерименті та клінічно, покращанню результатів лікування хворих на хронічну венозну недостатність з трофічними виразками із застосуванням трансплантації клітин кордової крові.

Комплексне лікування трофічних виразок венозної етіології, незважаючи на досягнення сучасної медицини, залишається актуальним та до кінця не вирішеним питанням сьогоденної хірургії. Трофічні виразки венозної природи становлять понад 70 % усіх виразок нижніх кінцівок і виявляються в кожного п'ятого хворого з хронічною венозною недостатністю. Як наслідок, спостерігається висока втрата працездатності, що коливається від 80 до 100 %, рівень інвалідизації до 3 %. За даними літератури, під впливом консервативної терапії тривалістю до чотирьох місяців, загоєння венозних трофічних виразок відбувається лише в 50 % випадків. Після двох років лікування не загоюється 20 %, а після п'яти років – 8 % виразок. Відомо, що в основі розвитку трофічних порушень у разі хронічної венозної недостатності лежить венозна гіпертензія, яка ініціює каскад патологічних реакцій на молекулярному, клітинному та тканинному

рівнях. Гістопатологи, хірурги та фармацевти працюють над питаннями прогнозування розвитку ранового процесу та новими методами загоєння хронічних ран.

Останніми роками увагу науковців все більше привертають технології, що пов'язані з використанням клітинних трансплантацій при різних патологічних станах. На сьогодні, враховуючи величезну біологічну цінність кордової крові, її розглядають як джерело стовбурових клітин порівняно з кістковим мозком та периферичною кров'ю. Ці клітини застосовуються для лікування широкого кола різних захворювань завдяки своїй здатності диференціюватися в різні типи клітин і відновлювати клітини пошкоджених або хворих органів і тканин, наприклад, печінки, головного мозку, серця, судин, кісток, хряща, крові, шкіри та інших.

Об'єктом дослідження стала декомпенсована хронічна венозна недостатність нижніх кінцівок (С6 за CEAP) з трофічною виразкою, що тривало не загоюється.

Наукова новизна отриманих результатів полягає у розробленні моделі трофічної виразки кінцівки, що поєднана з венозною гіпертензією, вивченні гістологічних та імуногістохімічних процесів, що відбуваються в ділянці трофічної виразки на тлі венозної гіпертензії в експерименті. Новим є визначення критеріїв репаративних процесів після трансплантації клітин кордової крові в зону ураження та лікування хворих з венозними трофічними виразками із застосуванням трансплантації клітин кордової крові.

Для досягнення поставленої мети використовували такі методи дослідження: загально-клінічні, антропометричні, лабораторні, інструментальні, гістологічні, імуно-гістохімічні, статистичні.

Експериментальні дослідження проведені на 50 білих щурах масою 200–240 г. Тварини розподілені на дві групи. Першій – на третю добу після формування, за розробленою нами методикою трофічної виразки в м'язову тканину під виразковий дефект одноразово вводилася клітинна суспензія з наступними параметрами: вміст ядровмісних клітин – $0,11 \times 10^9$ до $3,7 \times 10^9$,

кількість мононуклеарів – 15–60 %, КУО-ГМ – $(50 \pm 10) \times 10^3$ /мл, вміст гемопоетичних клітин, що несуть на своїй поверхні маркери CD34+ CD45+ та CD117+ CD45+, дорівнював відповідно $0,85 \pm 0,20$ % та $1,52 \pm 0,39$ %. Життєздатність клітин – 80 ± 10 %. Друга група тварин – контрольна, на третю добу під змодельований виразковий дефект одноразово пункційно вводили фізіологічний розчин.

Забір матеріалу для дослідження проводили на 3, 5, 10, 14, 21, 25-ту добу після введення клітин кордової крові та проводилося гістологічне дослідження отриманих біоптатів, які забарвлені за методом Слінченка та імуногістохімічного методу для виявлення віментину (з антитілами до віментину) та фактора Віллебранда (з антитілами до фактора Віллебранда).

Результати експерименту показали, що процеси відновлення цілісності та загоєння виразкового дефекту мають місце в експериментальній моделі трофічної виразки, проте їх вираженість та активність різняться у тварин дослідної та контрольної групи, а саме експериментально сформовані виразкові дефекти в контрольній групі тварин значно зменшились в об'ємі, деякі загоїлися повністю. У дослідній групі тварин виразкові дефекти загоїлись у 100 % випадків.

При порівнянні щурів першої та другої груп можна відзначити, що в останніх ступінь зрілості рубцевої тканини був нижчим, що проявлялося 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 $38 \pm 2,4$ %). Віментин-позитивні клітини переважно мали фібробластне диференціювання.

Для клінічного етапу було відібрано 32 пацієнта з трофічними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються. Всі хворі отримували стаціонарне лікування в умовах відділення хірургії судин ОКУ «Чернівецька обласна клінічна лікарня» у період 2015–2019 роки. Причиною венозної недостатності даних пацієнтів був діагноз: посттромбофлебітична хвороба нижніх кінцівок, C6EsAdPr (Class – клас захворювання, Etiology –

етіологія захворювання, Anatomy – уражений анатомічний басейн і Pathology – патологічний механізм).

Критерієм включення були: пацієнти, які в анамнезі вже перенесли оперативні втручання по корекції венозної гіпертензії, якщо такі були показані; відсутність ефекту від базисної терапії в стаціонарних та амбулаторних умовах і загальним часом існування виразкового дефекту не менше 2-х років.

Критерієм виключення були: глибина трофічної виразки сягала кісткової тканини або сухожилків; наявність хронічного захворювання у фазі загострення; наявність онкологічного захворювання або онконастороженості; наявність гемодинамічно-вагомих порушень артеріального кровопостачання тканин нижніх кінцівок (змішані виразки); цукровий діабет; хронічна хвороба нирок IV–V ст., що потребує діалізу; застійна кардіоміопатія; печінкова недостатність.

Переважає більшість пацієнтів обох груп страждала на трофічну виразку тільки на одній кінцівці, проте у 5 хворих ураженням вивляли на обох нижніх кінцівках. Виявлено, що локалізація ранових дефектів шкіри у більшості хворих обох груп була по медіальній поверхні нижньої третини гомілки і зустрічалась у 21 пацієнтів (70 %), а у 6-и (20 %) латеральній та передній поверхнях обох гомілок. У 5-и (10 %) пацієнтів були множинні ураження, тобто одночасно було декілька відкритих виразок різної локалізації на обох гомілках. Згідно з отриманим лікуванням пацієнти були розподілені на дві групи: дослідження (I група) та контролю (II група). Групу дослідження склали 14 пацієнтів, яким на тлі базисної терапії під епідуральною анестезією пункційно під виразку вводилась клітинна суспензія з наступними параметрами: вміст ядровмісних клітин – $0,11 \times 10^9$ до $3,7 \times 10^9$, кількість мононуклеарів – 15–60 %, КУО-ГМ – $(50 \pm 10) \times 10^3$ /мл, вміст гемопоетичних клітин, що несуть на своїй поверхні маркери CD34+ CD45+ та CD117+ CD45+, дорівнював відповідно $0,85 \pm 0,20$ % та $1,52 \pm 0,39$ %.

Життєздатність клітин – 80 ± 10 %. Групу контролю склали 18 пацієнтів, які отримували стандартну консервативну терапію.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що процес загоєння у пацієнтів дослідної групи розпочинався з перших діб після трансплантації зі зменшення набряку та запальної гіперемії м'яких тканин навколо виразки. Зменшення ексудації ранової поверхні відбувалось вже з третьої 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. Аналогічну картину в пацієнтів з базисною терапією спостерігали лише після 14-ї доби. Упродовж перших 7–10 діб після трансплантації, завдяки стимуляції власних регенеративних можливостей організму, об'єм трофічних виразок значно зменшувався. 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, а далі процес загоєння, в основному, відбувався за рахунок крайової епітелізації, аж до повного загоєння виразок. У пацієнтів контрольної групи загоєння відбувається набагато повільніше з формуванням грубої нееластичної рубцевої тканини та збереженням «мінус тканини».

На 14-добу клінічного дослідження в дні виразки в основній групі спостерігаються морфологічні ознаки кращого дозрівання грануляційної тканини, що видно як за більш рівномірними 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 в них та ендотеліоцитів з більш повноцінною продукцією фактора Віллебранда.

Індекс швидкості загоєння виразкового дефекту у пацієнтів груп I та II різнився 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 зазначити, що даний індекс швидкості був однаковим упродовж 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 знижувалась до 28-ї доби.

За основу оцінки якості життя хворих з трофічними виразками нижніх кінцівок нами була обрана шкала Chronic Venous Insufficiency Questionnaire (CIVIQ). Для проведення оцінки якості життя пацієнта анкетування проводили до операції, через 1 та 6 місяців після операції. Хворі I групи мали вищу оцінку якості життя, оскільки швидше проходив процес загоєння виразки, зменшувалося відчуття болю і, як наслідок, покращувався психоемоційний стан хворого. Крім того, 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.

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

Olinik Yu. V. Cord blood cell transplantation in the complex treatment of patients with chronic trophic ulcers of venous etiology. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for a PhD degree in medical sciences in specialty 14.01.03 «Surgery». – Bukovynian state medical university, 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.

Comprehensive treatment of trophic ulcers of venous etiology, despite the achievements of modern medicine, remains relevant and unresolved issues of today's surgery. Trophic venous ulcers are more than 70 % of all lower extremity ulcers and occur in one of the 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 occur 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, due to 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 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, immuno-histochemical, statistical.

Experimental studies were performed on white rats weighing 200–240 g. Animals were divided into two groups. Group I – on the third day after the formation of a trophic ulcer in the muscle tissue under the ulcer was injected cell suspension with the following parameters: the content of nucleated cells – $0,11 \times 10^9$ to $3,7 \times 10^9$, the number of mononuclear cells – 15–60 %, CFU-GM – $(50 \pm 10) \times 10^3/\text{ml}$, the content of hematopoietic cells bearing the markers CD34 + CD45 + and CD117 + CD45 + on their surface was equal to $0,85 \pm 0,20$ % and $1,52 \pm 0,39$ %, respectively. Cell viability is 80 ± 10 %. The second group of animals – control group, 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. $38\pm 2,4\%$). 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 inclusion criteria were: patients who have a history of surgery to correct venous hypertension, if needed; no effect of basic therapy in inpatient and outpatient settings and the total duration of the ulcer defect is not less than 2 years.

The exclusion criteria were: the depth of the trophic ulcer reached the bone tissue or tendons; the presence of chronic disease in the acute phase; the presence of cancer; the presence of hemodynamically significant disorders of arterial blood supply to the tissues of the lower extremities (mixed ulcers); diabetes mellitus; chronic kidney disease IV–V, requiring dialysis; congestive cardiomyopathy; liver failure.

The vast majority of patients in both groups suffered from trophic ulcers only on one limb, but in 5 patients the lesions were present 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, there were several open ulcers of different localization on both legs. According to the received treatment, 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 and under epidural anesthesia were injected under the ulcer cell suspension with the following parameters: the content of nucleated cells – $0,11\times 10^9$ to $3,7\times 10^9$, the number of mononuclear cells – 15–60 %, CFU-GM – $(50 \pm 10)\times 10^3/\text{ml}$, the content of hematopoietic cells bearing on its surface markers CD34 + CD45 + and

CD117 + CD45 +, was equal to $(0,85\pm 0,20)$ and $(1,52\pm 0,39)$ %, respectively. Cell viability – 80 ± 10 %. 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 periulcellular 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) 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 index 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 day.

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 %) patients of group I noted that even with the preservation of some symptoms, their subjective manifestations were reduced and the feeling was 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.

Список публікацій здобувача:

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. Рациональна 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).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ ЕТІОПАТОГЕНЕЗУ ТА МЕТОДИ ЛІКУВАННЯ ТРОФІЧНОЇ ВИРАЗКИ ВЕНОЗНОГО ГЕНЕЗУ (огляд літератури)	26
1.1. Сучасні уявлення про епідеміологію, етіологію та патогенез утворення венозних трофічних виразок	26
1.2. Існуючі методи лікування хронічної венозної недостатності, ускладненої трофічною виразкою	29
1.3. Структурно-функціональні характеристики кордової крові та її практичне використання	34
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	43
2.1. Нормативно-правова база використання клітинних трансплантацій в Україні	43
2.2. Методика формування венозної гіпертензії та впровадження її в експериментальне доклінічне дослідження	45
2.3. Характеристика клітинного транспланта – стовбурових клітин кордової крові	47
2.4. Методика проведення гістологічних та імуногістохімічних досліджень	50
2.5. Планіметричне дослідження. Визначення коефіцієнту швидкості загоєння виразкового дефекту	54
2.6. Клінічні методи обстеження	55
2.7. Методики статистичного аналізу	58
РОЗДІЛ 3. КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ	59
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ	66
РОЗДІЛ 5. ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ	

РЕЗУЛЬТАТИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ	80
РОЗДІЛ 6. РЕЗУЛЬТАТИ ПЛАНІМЕТРИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ	96
РОЗДІЛ 7. ЯКІСТЬ ЖИТТЯ ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМИ ТРОФІЧНИМИ ВИРАЗКАМИ ВЕНОЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ	102
7.1. Оцінка показників якості життя хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології	102
7.2. Оцінка показників якості життя хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології під впливом лікування	104
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	11
ВИСНОВКИ.....	117
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	119
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	120
ДОДАТОК 1. Список опублікованих праць	134
ДОДАТОК 2. Впровадження	138

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВАП – веноактивні препарати;

ВАШ – візуально-аналогова шкала;

ЕКГ – електрокардіограма;

ПТФС – посттромбофлебітичний синдром;

СЕАР – Class – клас захворювання, Etiology – етіологія захворювання,

Anatomy – уражений анатомічний басейн і Pathology – патологічний механізм

СК КК – стовбурові клітини кордової крові;

СР – соціальна роль;

ТВ – трофічна виразка;

ФБ – фізичний біль;

ФР – фізична роль;

ФФ – фізична функція;

ХВН – хронічна венозна недостатність;

ХЗВ – хронічне захворювання вен;

ХТВ – хронічні трофічні виразки.

ВСТУП

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 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 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 CEAP) 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.

РОЗДІЛ 1

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

1.1. Сучасні уявлення про епідеміологію, етіологію та патогенез утворення венозних трофічних виразок

За даними літератури, трофічні венозні виразки становлять понад 70 % усіх виразок нижніх кінцівок і виявляються у кожного п'ятого пацієнта з хронічною венозною недостатністю [57], на яку страждає не менше 17 % населення України [33]. Проведені вітчизняні епідеміологічні дослідження стверджують, що 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 [63].

За матеріалами Американського венозного форуму, серед загальної кількості хронічних ранових дефектів нижніх кінцівок, на долю саме венозних виразок припадає більш ніж 50 % [14].

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 [43]. Щорічний приріст хронічних трофічних виразок в популяції пацієнтів старше 45 років складає 3,5 випадки на 1000 осіб населення. У пацієнтів похилого та старечого віку частота виникнення венозних трофічних виразок зростає більш, ніж у 3 рази і сягає 4–6 %. [57]. Виразки венозного генезу призводять до втрати працездатності у 45 % хворих, які обмежені в мобільності і змушені пересуватись лише в межах дому [33], а довготривалий процес лікування несе за собою значні фінансові затрати. Так, на лікування хронічних ран у США щорічно

витрачається до 25 мільярдів доларів [73].

В 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 упродовж 12 місяців виникає рецидив захворювання [81, 84].

Не слід забувати, що на тлі інфікованої трофічної виразки можливий розвиток гострого гнійного тромбофлебіту підшкірних вен нижніх кінцівок, лімфангоїту, пахового лімфаденіту та бешихи, особливо у теплу пору року. Часті спалахи місцевої інфекції викликають незворотні склеротичні зміни лімфатичних колекторів, з розвитком вторинної лімфедеми (П. І. Тураєв, 2005). У огрядних пацієнтів з великими венозними трофічними виразками добова втрата рідини через їх поверхню може досягати 1000-1500 мл, що призводить до хронічної дегідратації. В минулому, відомі випадки, коли у пацієнтів з трофічною виразкою гігантських розмірів, що циркулярно охоплювала гомілку та не піддавалась лікуванню, а навпаки мала тенденцію до прогресування, єдиним методом лікування залишалась ампутація кінцівки. Ще одним грізним ускладненням, про яке застерігав І. І. Сухарєв (2000) є малігнізація трофічних виразок. Воно зустрічається у 0,02 % спостережень.

У 2008 році група дослідників з Американського венозного форуму, Американського коледжу флебології, Європейського венозного форуму, міжнародного союзу ангіології та флебології опублікували сумісний документ, щодо стандартів діагностики та лікування хронічної венозної недостатності (International Angiology, 2008, Vol. 27). Згідно їхніх даних, причиною розвитку ХВН є венозна гіпертензія викликана порушенням венозного кровотоку – рефлюксу крові у глибоких та поверхневих венах, внаслідок клапанної недостатності при варикозній хворобі та посттромбофлебітичному синдромі, що у свою чергу призводить до цілого ряду патологічних змін на клітинному та тканинному рівнях і, як наслідок, розвитку трофічної виразки [35, 114].

На нашу думку, саме розуміння механізмів патогенезу утворення виразкового дефекту, дасть можливість науковцям впливати та активізувати власні регенеративні процеси більш результативно, особливо у випадках, коли загальноприйняті методи лікування є мало або неефективні.

Таким чином, повертаючись до питання патофізіології, за даними літератури такі методи, як лазерна доплерографія, черезшкірна оксиметрія, внутрішньотканьова капіляроскопія, мікролімфографія та біопсія шкіри, дозволили встановити зміни мікроциркуляції м'яких тканин кінцівок на різних стадіях розвитку ХВН. При проведенні капіляроскопії виявляють, що при розвитку та зростанні гіпертензії у венозних кінцях капіляру, вони стають помітно розширеними, подовженими та звивистими, особливо на ділянках шкіри з гіперпігментацією та ліподерматосклерозом, це призводить до збільшення проникнення стінок з виходом фібрину, $\alpha 2$ макроглобуліну та еритроцитів у дермальний інтерстиційний простір, що у своє чергу викликає формування «ореола» навколо розширених капілярів, так званої «фібринової манжетки», яка перешкоджає нормальному харчуванню клітин шкіри та створює подальші умови для утворення виразки [58]. Продукти деградації еритроцитів та внутрішньотканинна білкова трансудація – потужні хемоатрактанти, які проявляються як початковий основний сигнал хронічного запалення, відповідальний за активацію лейкоцитів. За допомогою капіляроскопії видно, що ці цитохімічні зміни призводять до збільшення експресії ендотелієм капіляру інтерлейкінів та молекул адгезії – ICAM-1 та VCAM-1. Дані молекули адгезії використовуються макрофагами, Т-лімфоцитами і тучними клітинами для діapedезу, а також сприяють міграції лейкоцитів назовні, створюючи «лейкоцитарну пастку», яка підсилює набряк і запалення. Виникає наступний феномен – капілярний тромбоз, що несе за собою скорочення кількості функціонуючих капілярів, які живлять шкіру, і, як наслідок, зниження напруги кисню та зростаючу ішемію ураженої ділянки, застійного дерматиту та шкірному фіброзу.

Поступово прогресуючи цей процес призводить до вогнищового некрозу та, зрештою, до утворення виразкового дефекту.

Ще одним аспектом, який також надає несприятливий вплив на клінічний перебіг трофічних виразок є те, що на тлі гіпоксичних змін в тканинах у хворих порушується функція периферичних нервових закінчень, що проявляється розвитком дистальної полінейропатії [65].

1.2. Існуючі методи лікування хронічної венозної недостатності, ускладненої трофічною виразкою

На сьогоднішній день сучасна медицина та фармацевтичні корпорації світу пропонують використовувати для лікування трофічних виразок кінцівок близько 200 консервативних і хірургічних методів, а також більше 1000 різних засобів і лікарських препаратів Їх число продовжує неухильно зростати [61], проте жоден з них не вирішує поставлене завдання до кінця.

Сучасний підхід до консервативної терапії трофічних виразок визначає необхідність комплексного лікування з урахуванням етіології та патогенезу розвитку трофічних розладів. Не можна опиратися на певний один метод, або препарат, навіть найефективніший. Необхідно також враховувати тривалість захворювання, фази раньового процесу, а також розміри виразкового дефекту [12, 63].

Згідно з результатами дослідження *Effect of Surgery and Compression on Healing and Recurrence (ESCHAR, 2004)*, компресійна терапія є першим важливим кроком у лікуванні венозних виразок. Згідно рекомендації *European Wound Management Association (EWMA)* щодо проведення компресійної терапії (*Management of patients with venous leg ulcers: Challenges and Current Best Practice, 2016*) – компресійна терапія з тиском >40 мм.рт.ст. є більш ефективною щодо загоєння виразок, ніж із нижчим тиском, а після загоєння виразки рекомендується подальше застосування компресії для запобігання рецидиву.

Європейський комітет нормалізації Європейського предстандарту рекомендує розрізняти 4 класи компресії (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Класи компресії

Клас компресії	мм.рт.ст.	Покази до застосування
A	10–14	Статичні навантаження, подорожі, заняття спортом.
I	18–21	Профілактика варикозної хвороби та тромбоза глибоких вен у вагітних, ретикулярний варикоз, телеангіектазії.
II	23–32	Варикозна хвороба, в т.ч., у вагітних. Тромбофлебіт підшкірних вен. Після оперативних втручань на нижніх кінцівках. Профілактика тромбозу глибоких вен в групах ризику.
III	34–46	Варикозна хвороба з трофічними порушеннями та набряком. Тромбоз глибоких вен. Посттромбофлебітична хвороба.
IV	Більше 49	Лімфедема, вроджені флебодисплазії.

Оперативне лікування. Основою лікування трофічних дефектів шкіри нижніх кінцівок венозного генезу є корекція порушень венозного відтоку. Для усунення вертикального рефлюксу та збільшення шансів загоєння виразки рекомендовано використовувати хірургічний стріпінг, який, на нашу думку, є занадто травматичним, або термальні абляційні методики (ЕВЛК, РЧА та ін.), які на сьогоднішній день, за наявності устаткування, є методом вибору завдяки своїй мініінвазивності та можливості проведення в амбулаторних умовах. За наявності рефлюксу в глибоких венах їх перев'язування не впливає на венозну гемодинаміку. У пацієнтів із оклюзією

або стенозом клубових вен та нижньої порожнистої вени рекомендовано ангіопластику зі стентуванням.

Медикаментозна терапія – веноактивні препарати ВАП. Численні дані рандомізованих подвійних сліпих досліджень продемонстрували протинабрякову дію та ефективне зменшення симптомів хронічних захворювань вен (ХЗВ), таких як тяжкість, біль і дискомфорт в ногах, при застосуванні ВАП [60]. Це стало підставою для визнання їх важливим компонентом терапевтичного лікування на всіх стадіях хвороби. ВАП можуть посилити ефективність компресійної терапії, а деякі з них прискорюють загоєння трофічної виразки. Веноактивні препарати мають два патофізіологічних механізми дії. Вони діють на мікроциркуляторні порушення в венозній стінці та венозних клапанів, які є причиною венозної гіпертензії, а також змінюють мікрогемодинамічні ефекти венозної гіпертензії – причину венозної мікроангіопатії [77]. Механізм впливу залежить від виду лікарського засобу. У сучасних гайдлайнах представлено лікарські засоби, що показані для лікування хронічного захворювання вен (табл. 1.2.) (Nicolaidis A., Perrin M., 2013).

Також, дані рандомізованих досліджень свідчать про те, що у разі застосування в комплексному лікуванні низькомолекулярних гепаринів ймовірність загоєння трофічних виразок зростає на 20 % (67 % проти 47 % у групі плацебо) [13].

Місцева терапія. Стосовно місцевої терапії трофічних виразок, слід згадати про “Shave” терапію, яка передбачає надфасціальну некректомію і фіброзектомію за допомогою спеціального дерматома з одночасною трансплантацією шкіри. Цей метод використовується в певних регіонах Європи (Німеччина, Австрія, Швейцарія, Франція), проте рандомізованих досліджень на даний момент немає [89, 93, 125].

Слід згадати і за V.A.C. терапію, що базується на використанні негативного тиску шляхом накладання на трофічну виразку герметичної ранової пов'язки, з'єднаної з вакуумною помпою на певний термін. За даними

літератури, доведена ефективність при лікуванні діабетичних некротичних виразок, але для інших типів хронічних ран необхідні подальші дослідження [118].

Таблиця 1.2

**Лікарські засоби, що показані для лікування
хронічного захворювання вен**

Показання	Веноактивні препарати	Обґрунтованість рекомендацій	Якість доказів	Ступінь доказовості
Зменшення венозних симптомів (клас C0–C6) та набряків (клас C3)	Оригінальна мікронізована фракція флаванолідів	сильна	Помірна	1B
	Рутозид (О-бета-гідроксиетил)	слабка	помірна	2B
	Простий діосмін	слабка	Низька	2C
	Добезилат кальцію	слабка	помірна	2B
	Гідроксиетил-рутозид	слабка	помірна	2B
	Екстракт рускусу	слабка	помірна	2B
	Гінкго білоба	слабка	низька	2C
Додаткове лікування венозної виразки (клас C6)	Оригінальна мікронізована фракція флаванолідів	сильна	помірна	1B
	Пентоксифілін	слабка	помірна	2B

На сьогоднішній день запропоновано широкий діапазон місцевих лікарських засобів і перев'язок для відторгнення некротичних мас, стимуляції грануляцій та реепітелізації венозних виразок, зокрема гідрогелі, альгінати, гідроколоїди, ферментативні засоби, фактори росту, піни та плівки, проте слід зазначити, що немає специфічного виду пов'язки, яка б мала переваги над іншими.

Окремо слід виділити тканинні еквіваленти шкіри, засновані на культивованих кератиноцитах і фібробластах, які, як повідомлялось [72] прискорюють загоєння виразок. Місцеве застосування антибіотиків у хворих з венозними виразками невиправдано через появу стійких мікроорганізмів і збільшення ризику контактного дерматиту [127]. Однак, системні антибіотики показані при наявності β -гемолітичного стрептокока та ознак інфекції м'яких тканин.

Також необхідно пам'ятати про захист навколишньої шкіри від виділень із виразки шляхом накладання стероїдних мазей, цинкової пасти тощо. У разі гнійних виділень показане місцеве застосування антисептиків із перевагою препаратів срібла та бетадину. Не слід забувати, що рутинна некректомія сприяє швидшому очищенню рани.

Згідно рекомендацій *Clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum: Management of venous leg ulcers, 2014*, у разі безуспішності традиційного місцевого лікування венозних виразок упродовж 4-6 тижнів, якщо площа виразки зменшується менш, ніж на 30%, лікар повинен розглянути можливість додаткового лікування.

Пошук нових методів комплексного лікування трофічних виразок нижніх кінцівок є актуальним питанням сучасної флебології, адже незважаючи на постійну роботу гістопатологів, хірургів та фармацевтів над прогнозуванням розвитку ранового процесу, його загоєння залишається майже недосяжною ціллю.

1.3. Структурно-функціональні характеристики кордової крові та її практичне використання

На сьогоднішній день клітинна терапія є чи не однією з найбільш багатообіцяючих галузей медицини і є комплексом медичних заходів, заснованих на використанні живих клітин спрямованих на відновлення втраченої або порушеної функції різних органів і тканин. Клітинні технології вже застосовуються при лікуванні широкого спектру захворювань, і в багатьох напрямках досягнуто гарних результатів [30].

Особливе місце в клітинній терапії належить стовбуровим клітинам (СК). 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* (Guan et al, 1999). Ці клітини мають здатність диференціюватися в різні типи клітин і відновлювати тканини пошкоджених органів: печінки, серця, шкіри, судин, кісток та ін. [56].

Розрізняють:

– ембріональні стовбурові клітини (ЕСК) – знаходяться у внутрішньому клітинному шарі ембріона на стадії бластоцисти (дослідження та використання заборонені в більшості країн світу через етичні міркування) [38, 123];

– соматичні стовбурові клітини (ССК) – в диференційованих тканинах дорослого організму, таких як кістковий мозок, кров, жирова тканина, шкіра, верхівки зубів, слизиста оболонка носоглотки;

– фетальні стовбурові клітини (ФСК) – в пуповині, плаценті.

Всі ці клітини мають загальні характеристики:

- 1) здатність до самопідтримки протягом тривалого часу;
- 2) відсутність будь-яких тканинспецифічних маркерів, відповідальних за виконання спеціальних функцій;

3) здатність до диференціювання в будь-які спеціалізовані клітини організму. При введенні СК в організм пацієнта вони самі вирішують, в який вид клітин перетворитися – це хоумінг, а також провокують виділення в кров цитокінів – це так званий паракринний ефект (гормоноподібний) [2, 59].

Плацента – це тимчасовий орган жіночого організму, що з'являється в період вагітності та містить у собі набір специфічних плацентарних білків, гормонів, ростових факторів, цитокінів, гемопоетичних факторів, інтерлейкінів, опіодних пептидів, ферментів і проферментів, вітамінів, мікроелементів та репродуктивних імуномодуляторів. Рівень даних речовин у плацентарній крові значно вище, ніж у крові дорослої людини.

В літературі зустрічається декілька назв кордової крові: пуповинна, плацентарна або фетальна. Отже, кордовою називається кров, що міститься в судинах пуповини та плаценти після народження дитини та відокремленні її від матері. Вона – частина крові плоду [11]. Кордова кров забезпечує доставку до різних тканин і органів біологічно активних речовин, що продукуються плацентою та фетальними тканинами. Ці сполуки визначають подальший ріст та диференціювання тканин плоду, відповідають за регулювання процесів метаболізму.

На сьогоднішній день в світовій медицині кордова кров виходить на перше місце, як джерело стовбурових клітин [50, 75]. Це обумовлено рядом переваг крові пуповини над іншими джерелами стовбурових клітин. Найбільшою з них є її менша імунологічна реактивність, що обумовлює зниження ризику реакції «трансплантат проти хазяїна» завдяки можливості використання аутологічного матеріалу. Також слід звернути увагу на те, що кров пуповини містить значну кількість клітин-попередників (вміст стовбурових клітин в пуповинній крові в 10–12 разів вище, ніж у кістковому мозку). Важливою є можливість здійснювати трансплантацію по чотирьох або навіть п'яти типам тканинної специфічності із шести можливих (HLA), крім того висока доступність пуповинної крові (у світі близько 200 млн. пологів на рік), відсутність ризику для здоров'я матері та дитини, простота

забору, оброблення та збереження матеріалу, відсутність щодо стовбурових клітин кордової крові юридичних, релігійних або етичних застережень, пов'язаних з використанням зародкових стовбурових клітин [1, 87]. Не слід забувати за необмежену можливість тривалого зберігання гемопоетичних клітин кордової крові в замороженому стані чи ліофілізованих. Це дозволяє накопичувати та зберігати різні HLA – типи стовбурових клітин, у той час як потенційні донори кісткового мозку згодом вибувають з донорського реєстру за різних причин (вікові обмеження, соматичні хвороби, міграції, відмова донора і т.д.). Істотним пунктом є також значно менша їх вартість у порівнянні з кістковим мозком [39].

За останні роки проведено ряд досліджень щодо порівняльної оцінки донорської та кордової крові людини [85, 86]. Доведено, що мають місце значні відмінності реологічних показників [113], коагуляційної системи [119], переносу кисню [3, 69], імунологічних показників [8]. Істотні розходження спостерігаються також у вмісті білкових компонентів сироватки кордової крові при порівнянні її з донорською [34, 44, 46].

Однією з відмінностей складу та властивостей кордової та донорської крові є система переносу кисню. Еритроцити крові пуповини мають ряд структурно-функціональних особливостей, що відрізняють їх від еритроцитів дорослої людини [66, 79]. Кордова кров містить, переважно, фетальний гемоглобін, що відрізняється від нормального гемоглобіну дорослих, та має підвищену спорідненість до кисню.

Так само, коагуляційна система у новонароджених дітей відрізняється від такої у дорослих цілим рядом показників. Відомо, що в крові пуповини знижений загальний вміст майже усіх факторів коагуляції II–XII (крім VIII і IX), фібриногену, інгібіторів коагуляції, протеїну С та кофактору II гепарину [119]. За даними літератури, кордова кров має нижчий рівень факторів коагуляції у порівнянні з донорською кров'ю дорослої людини [95]. Вміст загального білку в кордовій крові (47–65 г/л) нижчий, ніж у дорослих (68–85 г/л) [119]. Особливістю кордової крові, зокрема її сироватки, є

наявність більше 60 специфічних плацентарних білків, що виконують роль ферментів, гормонів, гемопоетинів, адаптогенів, рецепторів, факторів росту, імунорегуляторних агентів; вміст цілого ряду пептидів – структурних аналогів нейропептидів головного мозку, опіоїдних пептидів (ендорфінів й енкефалінів) [34, 44; 46].

Одним з найбільш функціонально важливих білків кордової крові вважається еритропоетин, що належить до групи цитокінів [45, 52]. У кордовій крові в нормі концентрація цього білка в 2–3 рази перевищує його концентрацію в донорській крові [70, 120]. У зв'язку з цим, кордова кров може розглядатися як цінне джерело стимуляції еритропоезу [31, 124].

Як орган з інтенсивним метаболізмом, плацента багата різними ферментами, частина з яких, виявляється в кордовій крові. Серед групи відомих плацентарних білків, що потрапляють у кордову кров, важливе значення мають мембранозв'язані ферменти, такі як лужна фосфатаза, гуанілатциклаза, ароматога, трансферин, аденілатциклаза, цамф-фосфодіестераза, фібронектин, а також гіалуронідази та глутатіонтрансферази, що відіграють важливу роль у процесах детоксикації шкідливих речовин, у тому числі зв'язуванні лікарських препаратів і білірубіну [44, 78].

У кордовій крові в більших концентраціях, ніж у материнській і донорській крові, міститься гормон росту. Основна функція соматотропного гормону полягає у стимуляції росту клітин та тканин, регуляції процесів росту та оновлення тканин внутрішніх органів, росту плоду в цілому. Не менш важливою є участь у білковому, вуглеводному та жировому обміні. Велику роль гормон росту відіграє у синтезі глюкози та колагену. Слід зазначити, що у плазмі ще ненародженої дитини концентрація соматотропного гормону у 100 разів вища ніж у плазмі дорослої людини [71].

Науковцями виявлено в кордовій крові фактор росту нервів людини, раніше виділений із плаценти [44]. Відомо, що сироватковий остеокальцин у комплексі з ферментом кістяковою алкалін фосфатазою впливає на

активність остеобластів у динаміці процесу формування кістки. У кордовій крові концентрація сироваткового остеокальцину знаходиться на більш високому рівні, ніж у материнській крові [109]. Підвищення концентрації сироваткового остеокальцину у дитини аж до 1 тижня після народження значною мірою корелює з підвищенням 1,25-дегідроксивітаміном D. З цими змінами пов'язаний і мінеральний склад кістки. Передбачається, що кордова кров при трансфузії може позитивно впливати на відновлення кісткової тканини [109].

Ряд цитокінів, таких як фактор росту стовбурових клітин, інтерлейкіни, макрофаг-колонієстимулюючий фактор, гранулоцит-колонієстимулюючий фактор та ін., також виявляються у кордовій крові. Цитокіни – це базові поліпептидні гормони [10], найголовнішими властивостями яких, як відомо, є дубльованість будь-якої активності багатьма з них, а також плейотропізм [5]. Цитокіни в сукупності з іншими гормонами реалізують свою дію, зв'язуючись зі специфічними поверхневими рецепторами мембран клітин-мішеней [37, 67, 121].

Відомо, що кордова кров у значній мірі, порівняно з донорською, збагачена різними нейропептидами. У кордовій крові їх вміст у 3–5 разів вищий, ніж у крові дорослих [42, 48]. У кордовій крові виявлені ендорфіни та енкефаліни [42]. Високий вміст ендогенних опіюїдних пептидів у кордовій крові дозволяє очікувати при введенні виготовлених з неї препаратів, досягнення стійкого анальгезуючого ефекту, що дуже важливо за наявності різних хронічних синдромів [42, 46]. Опіюїдні пептиди в зрілому організмі беруть участь у регуляції больової чутливості, діяльності ендокринної системи, є регуляторами системи імунітету. Зниження вмісту β -ендорфіну відіграє істотну роль у патогенезі порушень функцій ендокринної системи [9]. Високий рівень опіюїдних пептидів, поряд з гонадотропними та яєчниковими гормонами, наявність специфічних ростових факторів, цитокінів та інших сигнальних молекул у сироватці кордової крові можуть сприяти нормалізації порушених функцій у системі гіпоталамус-гіпофіз-

яєчники та стимулювати рїст фолїкула у жїнок, захворювання яких супроводжується гормональною недостатнїстю й ановуляцією [8, 42, 48].

Незважаючи на підвищений вміст багатьох біо- та їмуностимуляторів у кордовїй кровї, ці речовини знаходяться в збалансованих концентраціях і утворюють біологічно активний комплекс, необхідний для організму, що розвивається, нормалїзує обмін речовин при введеннї в дорослий організм [46, 64].

Кров пуповини мїстить гемопоетичнї стовбуровї клїтини (СК), тобто попередники клїтин кровї, та негемопоетичнї СК, або мезенхімальнї стовбуровї клїтини (МСК), якї було видїлено на гелю Вартона з пуповини (умбілікальнї клїтини пуповини): у першїй і третїй триместри з хорїона, у першїй триместр – з амнїона, так само, як із ворсинчастої строми (плацентарна хорїональна ворсинка) [21, 108, 110, 111]. Weiss M.L. спробував характеризувати ці клїтини та показати, що вони можуть диференціюватися в нейроннї клїтини [128]. Цї матричнї клїтини несли маркернї гени, спільнї для мезенхімальних стовбурових клїтин, CD166, CD105, CD90, CD73, CD49e, CD44, CD29, CD13, так само як клас I МСК, але вони негативнї щодо CD14, CD34, CD45. Цї клїтини поширюються в культурї й несуть маркернї гени, виявленї в їнших стовбурових клїтинах. Можуть диференціюватися в наступнї типи клїтин — нейроннї, ендотелїальнї та епітелїоцити [103].

У лїтературних даних описано видїлення плїурїпотентних, або мультипотентних стовбурових клїтин з людської кровї пуповини й амнїотичної рїдини, якї також наявнї в рїзних плацентарних тканинах [97].

Не поодиноким трапляються лїтературнї вїдомостї про те, що потрапляючи в організм реципїєнта, стовбуровї клїтини продовжують жити, дїлитися, видїляти активнї речовини, пїддаються змїнам і диференціюванню у вїдповїдь на стимули навколишнього середовища. Наприклад, при трансплантації гемопоетичних стовбурових клїтин кїлькїсть еритроцитів і лейкоцитів у кровї впродовж уже першого тижня може збїльшитися в 1,5–2 рази [74].

Також зустрічаються дані, що в кордовій крові в більшій концентрації, порівняно з периферичною кров'ю, присутні CD4⁺ Т-хелпери типу 2, які продукують інтерлейкін-2. Даний медіатор має інгібуючу дію у відношенні до цитотоксичної активності Т-клітин, що також узгоджується зі зниженим цитотоксичним ефектом кордової крові [80, 87].

Завдяки поєднанню наявних в крові пуповини ростових та колоніє-стимулюючих факторів зі стовбуровими клітинами, число вторинних колоній значно більше в кордовій крові (до 1000 вторинних колоній), ніж у кістковому мозку (до 50 вторинних колоній). Вміст же грануломонопоетичних колонієформуючих клітин (CFU-GM) значно вищий в кордовій крові, ніж у здорових дорослих, причому більш ніж 40 % клітин знаходилися в S-фазі (а в дорослих менше 10 %) [74].

Зустрічаються короткі відомості про стовбурові клітини пуповинної крові, як кандидатів до регенеративної медицині. У кордовій крові виявлено популяцію плюрипотентних CD45-клітин. При культивуванні можуть бути збільшені до 10^{15} клітин, при цьому не втрачають свою плюрипотентну здатність. Популяція CD45⁺ здатна до диференціації у адипоцити, хондробласти, остеобласти, невральні та гематопоетичні клітини. Ще одним джерелом клітин може бути культура CD34⁺ ендотеліальних прогеніраторних клітин. Тривають дослідження, в яких повідомляється, що при потраплянні в середовище ішемії вони беруть участь у процесах неоангіогенезу [55, 107, 129].

Людська пуповина – одне з найважливіших джерел мезенхімальних стовбурових клітин, попередників ендотеліальних клітин. Ці клітини відіграють важливу роль у розвитку судинної біології [55]. Вони володіють майже всіма особливостями ендотеліальних клітин, несуть специфічні для них клітинні маркерні гени, таких як фактор Віллебранда і CD31 [55]; мають експресію рецепторів для факторів росту, цитокінів і вазоактивних лігандів і специфічні сигнальні провідні шляхи для судинного ендотеліального фактора

росту, фактору росту фібробласта, трансформованого фактору росту, фактору некрозу пухлини й ангіотензину [83, 102].

Зустрічаються повідомлення вітчизняних вчених про можливість використання стовбурових клітини фетальної крові у пацієнтів з неоперабельним враженням дистального судинного русла нижніх кінцівок, хворих похилого віку з вираженою супутньою патологією. Згідно їхніх досліджень при трансплантації ендотеліальних клітин попередників відбувається збільшення судинної сітки ішемізованих ділянок тканин кінцівок [58].

На сьогоднішній день використання клітинної терапії СК є багатообіцяючим методом лікування цілого ряду захворювань: печінки, таких як цироз та хронічні гепатити, реабілітація після інфаркту міокарда та інсульту головного мозку, бічного аміотрофічного склерозу, хвороби Альцгеймера, розсіяному склерозі, використовується для зниження ризику серцево-судинних ускладнень і смертності при серцевій недостатності, при захворюваннях нирок (хронічний гломерулонефрит, хронічна ниркова недостатність), в онкології, гематоонкології, при міокардіодистрофії Дюшена, захворюваннях підшлункової залози, цукровому діабеті, ішемічних захворюваннях нижніх кінцівок уражених атеросклерозом, цукровому діабеті, патології яєчників, безплідді, нейродегенеративних захворюваннях очей, генералізованному парадонтиті, дитячому церебральному паралічі, для відновлення кістковомозкового кровотворення після хіміотерапії і, лікування травм хребта, опіковій хворобі і т.д. [88, 90, 91].

Таким чином, кордова кров, яка містить набір специфічних плацентарних білків, гормонів, ростових факторів, цитокінів, гемопоетичних факторів, інтерлейкінів, опіюїдних пептидів, ферментів і проферментів, вітамінів, мікроелементів та репродуктивних імуномодуляторів, може також знайти широке застосування в клініці при тих захворюваннях, традиційна комплексна терапія яких є мало або неефективною [6, 15].

Найбільший вміст у кордовій крові ендотеліальних клітин-попередників, високий відсоток їх приживлюваності, низька імунореактивність і, як наслідок, зменшена реакція трансплантат проти хазяїна при трансфузії, можливість використання аутологічного матеріалу, дозволяють поставити кордову кров на перше місце, як джерело стовбурових клітин при клінічному застосуванні у судинній та регенераторній медицині.

До ефекту біологічної активності кордової крові додається вплив і потужної ферментної системи плацентарного походження, що визначає нормальний перебіг вагітності та пологів. Клітини кордової крові виробляють велику кількість цитокінів, які, як правило, мають плейотропну дію.

Не зважаючи на те, що патогенез виникнення венозних трофічних виразок достатньо вивчений, існуючі на сьогоднішній день методи лікування остаточно не вирішують всі завдання і загоєння виразкового дефекту, подекуди, триває роками. Саме унікальна здатність стовбурових клітин кордової крові диференціюватися практично у всі види клітин і, відповідно, впливати на різні ланки патогенезу, дає можливість розглядати клітинні трансплантації, як доповнення до комплексного лікування, що пришвидшить процес регенерації.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Нормативно-правова база використання клітинних трансплантацій в Україні

Порядок проведення досліджень, щодо застосування клітинних трансплантацій, які проводяться в нашій державі регламентуються цілим рядом нормативно-правових документів:

Закон України «Про застосування трансплантації анатомічних матеріалів людині» (Відомості Верховної Ради (ВВР), 2018, № 28, ст.232); із змінами, внесеними згідно із Законами № 2694-VIII від 28.02.2019, ВВР, 2019, № 16, ст.69; № 113-IX від 19.09.2019, ВВР, 2019, № 42, ст.238; № 418-IX від 20.12.2019, ВВР, 2020, № 28, ст.187.

Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 10.06.2019 N 1326 (N 697/33668) «Про затвердження переліку питань та уніфікованої форми акта, складеного за результатами проведення планового (позапланового) заходу державного нагляду (контролю) щодо дотримання суб'єктом господарювання вимог законодавства у сфері провадження господарської діяльності банків пуповинної крові, інших тканин і клітин людини згідно з переліком, затвердженим Міністерством охорони здоров'я України».

Постанова Кабінету Міністрів України «Про заходи щодо організації діяльності закладів охорони здоров'я та наукових установ, пов'язаної з трансплантацією органів, тканин і клітин» від 5 вересня 2007 р. № 1100.

Постанова Кабінету Міністрів України «Про затвердження Державної цільової соціальної програми «Трансплантація» на період до 2012 року» від 8 жовтня 2008 р. № 894; Із змінами, внесеними згідно з Постановою КМ 970 (970-2012-п) від 24.10.2012.

Наказ Міністерства охорони здоров'я України «Про вдосконалення нормативно-правової бази та адаптацію законодавства України до

Європейських стандартів в галузі трансплантації органів, тканин і клітин» від 28 вересня 2006 р. № 650 (зі змінами і доповненнями).

Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 20.04.2012 № 276 (№ 1124/21436) «Про затвердження Переліку тканин і клітин людини, з якими дозволена діяльність банків пуповинної крові, інших тканин і клітин людини» із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства охорони здоров'я № 927 від 20.11.2012.

Постанова Кабінету Міністрів України від 2 березня 2016 р. № 286 «Про затвердження Ліцензійних умов провадження господарської діяльності банків пуповинної крові, інших тканин і клітин людини згідно з переліком, затвердженим Міністерством охорони здоров'я».

Закон України «Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людині» дозволяє практичне використання анатомічного матеріалу після проведення клінічного випробування, відповідно до Постанови КМУ від 5 вересня 2007 року №1100 «Про заходи щодо організації діяльності закладів охорони здоров'я та наукових установ пов'язаної з трансплантацією органів, тканин і клітин». Експериментальні дослідження проведені згідно з правилами «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей».

Порядок клінічних випробувань тканинних та клітинних трансплантатів чітко регламентується наказом МОЗ України № 630 «Про затвердження порядку проведення клінічних випробувань тканинних та клітинних трансплантатів та експертизи матеріалів клінічних випробувань» від 10.10.2007 року із змінами, внесеними згідно з Наказами Міністерства охорони здоров'я N 226 (z0460-08) від 24.04.2008 та N 690 (z1010-09) від 23.09.2009. Наказ передбачає проведення доклінічного експериментального дослідження на лабораторних тваринах, з метою визначення ефективності та безпеки клітинної трансплантації.

2.2. Методика моделювання венозної гіпертензії та трофічної виразки

Нами на базі кафедри хірургії №1 Буковинського державного медичного університету проведено експериментальне дослідження, мета якого вивчити особливості впливу трансплантації клітин кордової крові на процеси регенерації трофічної виразки венозної етіології [17, 18, 20, 23, 27].

Загальна кількість дослідних тварин, які знаходились при кімнатній температурі та на звичайному лабораторному раціоні складала – 50 щурів. Середня маса щурів складала (240,4±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 см², 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 стегно'язувалась в двох місцях на відстані 1 см одне від одного, рана ушивалась (рис. 2.1, рис. 2.2).

Експериментальні тварини – 50 статевозрілих щурів обох статей, лінії Wistar, 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.

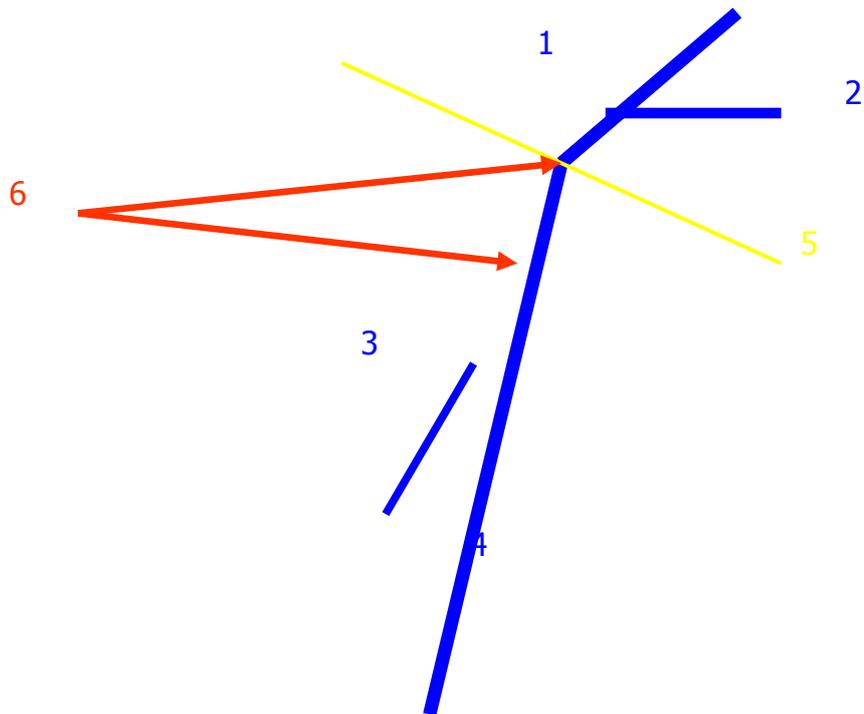


Рис. 2.1. Схема створення венозної гіпертензії (двоетапна стегно'язка стегнової вени): 1. v.iliaca externa, 2. v.circumflexa ilium profunda, 3. v.circumflexa femoris lateralis, 4. v.femoralis, 5. lig.inguinalis, 6. місце перев'язки вени.

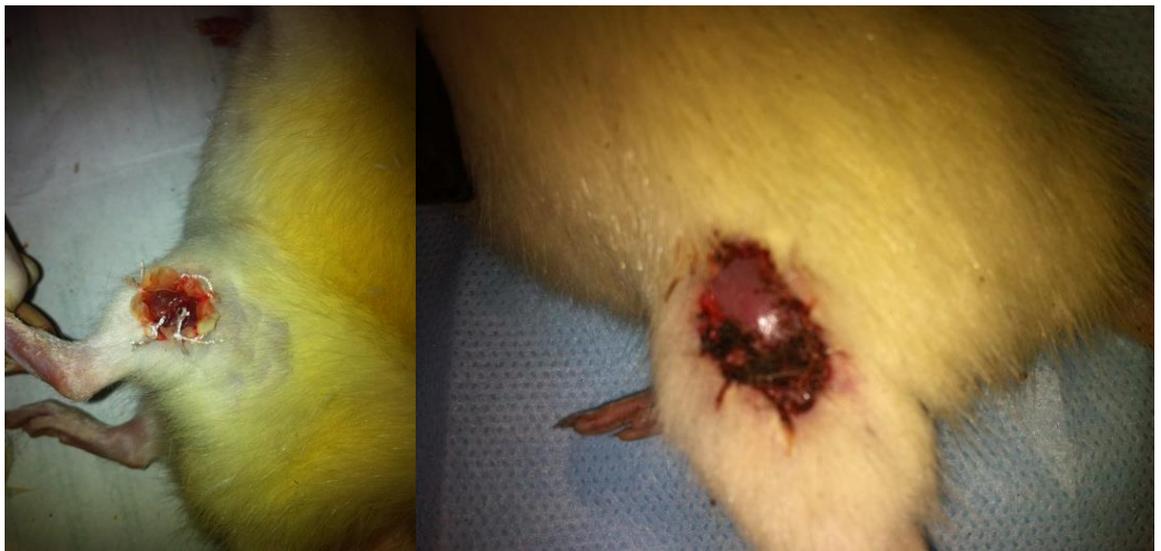


Рис. 2.2. Експериментально сформований виразковий дефект на тлі венозної гіпертензії.

Всі експериментальні оперативні втручання проводились під кетаміновим наркозом зі збереженням умов асептики та антисептики та дотримання етичних вимог

Тварин утримували при температурі 20–22 °С, годування проводилось *ad libitum* з вільним доступом до води. 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.

2.3. Характеристика клітинного транспланта – стовбурових клітин кордової крові

Клітинний трансплантат «Кріоконсервована пуповинна кров людини (КПКЛ)» це заморожена при температурі мінус 196 °С суспензія клітин, які виділені фракціюванням пуповинної крові на компоненти.

Препарат призначений для застосування в якості біологічного препарату при порушенні гемопоезу – первинні та вторинні імунодефіцити, аплазія кровотворення, анемії, лейкопенії, тромбоцитопенії, цитостатичній та променевої хворобах, аутоімунних захворюваннях (цукровий діабет, хвороба Паркінсона, міастенія та міапатія, боковий аміотрофічний склероз і ін.), гемобластозах тощо. Препарат підлягає дослідженням на наявність збудників ToRCH-інфекції (*Toxoplasma gondii*, вірус краснухи, цитомегаловірус, вірус простого герпесу 1 та 2 типів), сифілісу, ВІЛ-1 та ВІЛ-2, гепатитів В та С, токсоплазмозу, мікоплазми.

Для отримання клітин кордової крові використовується матеріал біологічного походження, який повинен відповідати встановленим вимогам.

Заготівля крові забезпечується спеціалізованими установами та закладами відповідно Закону України “Про донорство крові та її компонентів», 1995, №23, ст.184 із змінами, внесеними згідно із Законами № 395-XIV від 14.01.99, № 2120-III від 07.12.2000, № 2650-III від 11.07.2001, № 2905-III від 20.12.2001, № 380-IV від 26.12.2002, № 2177-IV від 16.11.2004,

№ 3108-IV від 17.11.2005, № 3421-IV від 09.02.2006, № 5460-VI від 16.10.2012, № 5492-VI від 20.11.2012, № 222-VIII від 02.03.2015, № 644-IX від 02.06.2020; Закону України «Про безпеку та якість донорської крові та компонентів крові» № 931-IX від 30 вересня 2020 року.

На першому етапі проводять добір вагітних жінок, у яких під час пологів передбачається забір крові на основі повної конфіденційності й анонімності. Донорство пуповинної крові, проводиться на засадах добровільної інформованої згоди.

Контейнер з пуповинною кров'ю супроводжується відомостями, що містять в собі: паспортні дані породілі; одержання згоди на вилучення пуповинної крові й оформлення відповідних документів; одержання і вивчення медичної карти вагітної жінки й історії пологів. Обстеження вагітної жінки на придатність для взяття пуповинної крові включає детальні клінічні та лабораторні тести.

Список протипоказань для донорства включає:

- аутоімунні захворювання;
- системні захворювання;
- вірусні захворювання;
- прогресуючі дегенеративні неврологічні захворювання;
- бактеріальна інфекція, септицемія;
- сифіліс;
- гепатити вірусної етіології;
- жовтяниця нез'ясованої етіології;
- група ризику ВІЛ інфекції;
- у минулому радіаційна чи хіміотерапія;
- наркоманія, прийом токсичних речовин;
- прийом гормональних препаратів;
- пухлини різної локалізації.

Пуповинну кров можна одержувати від породілі з неускладненим перебігом вагітності, відсутністю екстрагенітальної патології.

Виключаються також жінки, вагітність яких відбувалася на фоні акушерської та екстрагенітальної патології, а саме: гестози II половини вагітності й імунологічний конфлікт, загроза переривання вагітності, фетоплацентарна недостатність, гіпоксія, гіпотрофія плоду, гемотерапія в останні 3 тижні вагітності, внутрішньоутробна патологія розвитку плоду.

Координатор по забору пуповинної крові в умовах лікувальної установи робить аналіз карти вагітної й історії пологів, збирає анамнез породілі і, на підставі цього дає висновок про можливість одержання пуповинної крові. Координатор проводить роботу з одержання згоди породілі. Документи, що надаються, містять основні дані про породілю. Ця інформація повинна знаходитися в архіві Інституту клітинної терапії.

Форма згоди породілі на одержання і використання пуповинної крові заповнюється координатором і повноважним представником Інституту клітинної терапії.

Наказом Міністерства охорони здоров'я України прийняте рішення про обстеження породілі на наступні інфекції: сифіліс; гепатити В і С; ВІЛ та TORCH інфекції.

Забір крові для тестування і транспортування сироватки в діагностичну лабораторію здійснюють відповідно до Наказу міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2019 № 794 (№ 698/33669) «Про удосконалення системи управління якістю лабораторних досліджень у сфері протидії ВІЛ-інфекції/СНІДу» та Інструкцією МОЗ України «Контроль стерильності консервованої крові, її компонентів, препаратів, консервованого кісткового мозку, плазмозамініючих та консервуючих розчинів, умов їх заготівлі» №164 від 05.07.99 р.

Препарат з супроводжувальною документацією транспортувався в закритому автомобілі ТОВ «Інститут клітинної терапії» експедитором в ємкостях Дьюара при температурі -196°C .

Кріоконсервовану клітинну суспензію, отриману з банку пуповинної крові ТОВ «Інститут клітинної терапії», зберігали у рідкому азоті при температурі $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 моноклеарів – 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) %.

2.4. Методика проведення гістологічних та імуногістохімічних досліджень у експериментальних лабораторних тварин

З метою визначення ефективності використання клітин кордової крові в якості стимулятора процесів регенерації та ангіогенезу, були проведені гістологічні та імуногістохімічні дослідження отриманих біоптатів тканин змодельованої трофічної венозної виразки кінцівки щурів на різних етапах експерименту.

Гістологічний та імуногістохімічний аналіз біопсійного матеріалу виконували на базі наукової лабораторії Буковинського державного медичного університету (кафедра патологічної анатомії).

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). Методика забарвлення передбачає заливку на предметне скло відфільтрованого розчину гематоксиліну Бомера, терміном до 5–10 хв. Після злиття гематоксиліну назад до колби, зрізи вміщують у водопровідну воду на 10 хв. та дистильовану воду – 1–2 хв. Далі – розчин

хромотропу Б2 на 1 хв., ополіскують дистильованою водою. Потім скло поміщають у розчин фосфорно-вольфрамової кислоти до 1 хв. і знов ополіскують дистильованою водою. Далі після забарвлення водним блакитним 2–4 хв. скло вміщують у воду, а потім в 70 і 96 % спирт. Після наступної підсушки, зрізи вміщують в ксилол до їх прояснення, а потім у бальзам.

Вказане забарвлення дозволяє адекватно зафарбовувати тканини, фіксовані звичайним способом у формаліні. Після фарбування з'являється можливість візуалізувати волокна сполучної тканини – по чистому блакитному забарвленню різної інтенсивності, м'язова тканина – темно-червона, еритроцити – пурпурно-червоні, різні клітини: їх ядра і цитоплазма забарвлюються у відтінки кольорів від блакитного до червоного.

Окрім того, біоптати м'язової тканини досліджували за допомогою імуногістохімічного аналізу, що дозволило достатньо ґрунтовно простежити етапи стимульованого ангиогенезу.

Нами за допомогою імуногістохімічних методів був досліджений один з маркерів ангиогенезу, фактор Віллебранда – складний мультимірний адгезивний глікопротеїн, що синтезується ендотеліальними клітинами і мегакаріоцитами. Він утворює нековалентний комплекс з VIII фактором згортання в плазмі крові. Цей комплекс необхідний для стабілізації VIII фактору кровотоку і для його участі як ко-фактора в утворенні тромбу. забезпечуючи адгезію тромбоцитів через рецептори GP Ib, а при активації тромбоцитів бере участь в утворенні містків через рецептори GP IIb/IIIa. Окрім того, він є своєрідним містком між субендотеліальними структурами пошкодженої стінки судини та тромбоцитами, а також між окремими тромбоцитами на етапах адгезії, розпластування й агрегації тромбоцитів. Це обумовлено наявністю двох груп активних центрів: перші – для з'єднання з колагеном і глікозаміногліканами субендотеліального матриксу, інші – для зв'язку із специфічними тромбоцитарними рецепторами.

Таким чином, фактор Віллебранда стає своєрідним містком між тромбоцитом і оголеним субендотеліальним шаром. Таке його з'єднання з тромбоцитарними рецепторами призводить до подальшої активації тромбоцитарних комплексів ІІb/ІІа. При цьому останні набувають здатності приєднувати як фібриноген, так і фактор Віллебранда. Синтез фактору Віллебранда здійснюється з деяким “надлишком” – що не бере участі у виконанні фізіологічних функцій молекули фактору Віллебранда накопичуються у внутріклітинних органелах клітин ендотелію – тільцях Вейбеля – Палладе. У них фактор Віллебранда піддається посттрансляційній модифікації, мультимеризації, а при необхідності може бути швидко мобілізований.

Збільшення вмісту антигена фактору Віллебранда в крові є індикатором пошкодження ендотелію при первинній або вторинній патології судин. Це спостерігається при гострому або хронічному пошкодженні ендотелію (цукровий діабет, атеросклероз, пухлини різної локалізації, тощо).

Однак, коротке підвищення фактору Віллебранда спостерігається після фізичного навантаження, введення адреналіну або вазопресину, а також під час вагітності та свідчить про активне функціонування ендотеліоцитів і стимуляцію процесів ангиогенезу.

Таким чином, дані наукової літератури, свідчать про те, що рівень фактора Віллебранда в крові й тканинах є патофізіологічно, експериментально та клінічно верифікованим маркером функції ендотелію, що дозволяє оцінювати наявність і міру вираженості функціонального стану ендотелію.

Однією з основних складових частин цитоскелету еукаріотичних клітин є проміжні мікрофіламенти. На різних стадіях клітинної диференціації та ембріонального розвитку експресуються проміжні філаменти, які складаються з різних білків. Основна функція проміжних філаментів, яка обумовлена їх механічними властивостями та здатністю до самозбирання, полягає в забезпеченні клітинної та тканинної цілісності.

Механічна функція забезпечується шляхом зв'язування філаментами інших компонентів цитоскелету, таких як мікротрубочки, мікрофіламенти та плазматичною мембраною. Взаємодія з останньою відбувається в особливих ділянках прикріплення – в десмосомах і напівдесмосомах ендотеліальних клітин та місцях локальних контактів фібробластів.

Досліджуваний білок віментин належить до складової частини проміжних філаментів III типу, які експресуються переважно в фібробластах, ендотеліальних клітинах та деяких мезенхімальних клітинах.

Значна роль відводиться проміжним філаментам III типу в розподіленні органел та білків, що в свою чергу, впливає на їх функціонування. Результати експериментальних досліджень свідчать про те, що функціонування мітохондріального апарату, особливо, в молодих клітинах знаходиться в прямій залежності від віментинових проміжних філаментів. Проміжні філаменти III типу до складу яких входить віментин, тісно взаємодіють та активно впливають на роботу апарату Гольджі, рибосом, ендосом та ядерної оболонки.

Окрім того, проміжні філаменти III типу виконують немеханічну функцію, яка полягає у внутрішньоклітинному розподілі органел та транспорті ліпідів.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що віментин в поєднанні з білком AP-3 приймає участь в транспорті везикул між ендосомальними та лізосомальними складовими, регулюючи надходження білків в лізосоми та тканинспецифічні органели – меланосоми, гематопоетичні гранули та синаптичні везикули.

Необхідно зазначити, що проміжні філаменти є зручними маркерами клітинної диференціації, дослідивши які з білків філаментів експресуються в клітинах, можливо достатньо швидко визначити їх тип.

Отже, оскільки вищезазначені фактори є характерними показниками процесів новоутворення судин (фактор Віллебранда) та сполучної тканини

(віментин) були проведені імуногістохімічні дослідження експресії антигенів саме до цих факторів.

Фактор Віллебранда досліджували непрямим стрептавидін-пероксидазним методом виявлення рівня експресії антигенів.

Білок віментин досліджували непрямим стрептавидін-пероксидазним методом виявлення рівня експресії антигенів.

2.5. Планіметричне дослідження. Визначення коефіцієнту швидкості загоєння виразкового дефекту

Пацієнтам обох груп на 5-у, 14-у та 28-у добу після початку лікування та трансплантації СК КК 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 68649 «Спосіб визначення швидкості загоєння ран» [53]. Поставлена задача вирішується в способі визначення швидкості загоєння рани, шляхом математичного розрахунку, що включає визначення певного інтервалу часу. Згідно з винаходом, визначають величину об'єму рани в даний момент і величину об'єму рани через визначений інтервал часу і за формулою розраховують індекс загоєння рани:

$$\text{Індекс (\%)} = \frac{(V - V_1)}{V \times T} \times 100\%,$$

де V – величина об'єму рани в даний момент; V_1 – величина об'єму рани через визначений часовий інтервал (T), T – число днів між першим і наступним вимірами. Визначення зміни об'єму рани є більш точним методом визначення швидкості загоєння ран, що дозволяє краще оцінювати динаміку ранового процесу. Для зручності розрахунків вважають, що глибокі рани (глибина більш 0,5 см) мають форму півсфери або напівеліпсоїду і їхній об'єм розраховують за формулами:

$$\text{об'єм півсфери } V = \left(\frac{2}{3}\right)\pi r^3,$$

де r – радіус кулі.

Об'єм напівеліпсоїду: $V = \left(\frac{2}{3}\right) \pi abc$,

де a і b – півосі еліпса, c – висота (глибина рани) [16].

2.6. Клінічні методи обстеження

Класифікація CEAP. 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. В ній враховано клінічні (Clinical) прояви захворювання, етіологічні (Etiological) і анатомічні (Anatomical) фактори патології, а також характер патофізіологічних розладів (Pathophysiological).

Клінічна класифікація CEAP (1994) базується на об'єктивних проявах хронічних захворювань вен (стадія від 0 до 6), які при безсимптомному перебігу доповнюється індексом А, а при наявності симптоматики – індексом S. У важких стадіях захворювання можуть спостерігатись всі або деякі із симптомів. В результаті лікування клінічна картина може змінюватись, в цьому випадку стадію захворювання необхідно переглянути.

Міжнародна класифікація хронічних захворювань вен нижніх кінцівок (система CEAP):

I. Клінічна класифікація – «С»

C-0. Відсутність симптомів хвороби при огляді і пальпації

C-1. Телеангіоектазії або ретикулярні вени

C-2. Варикозно-розширені вени

C-3. набряк

C-4. Шкірні зміни, що обумовлені захворюваннями вен (пігментація, венозна екзема, ліподерматосклероз)

C-5. Шкірні зміни вказані вище і загоєна виразка

C-6. Шкірні зміни вказані вище і активна виразка

II. Етіологічна класифікація – «Е»

Ec – Вроджене захворювання

Er – Первинне з невідомої причини

Es – Вторинне з відомою причиною
(післятромботичне, післятравматичне)

III. Анатомічна класифікація – «А»

Сегмент Поверхневі вени (AS)

As1 – Телеангіоектазії (ретикулярні вени)

Система великої підшкірна вена (LSV)

As2 – Вище коліна

As3 – Нижче коліна

As4 – Мала підшкірна вена (LSV)

As5 – Немагістральна

Глибокі вени (AD)

Ad6 – Нижня порожниста

Клубові

Ad7 – Загальна

Ad8 – Внутрішня

Ad9 – Зовнішня

Ad10 – Тазові – гонадні, широкої зв'язки матки

Статеві

Ad11 – Загальна

Ad12 – Глибока

Ad13 – Поверхнева

Ad14 – Підколінна

Ad15 – Вени гомілки – передні і задня великогомілкові, малогомілкові

Ad16 – М'язів гомілки і стопи

Перфорантні вени (AP)

Ad17 – Стегна

Ad18 – Гомілки

IV. Патологічна класифікація – «Р»

Rr – Рефлюкс

Ro – Обструкція

Rr,o – Рефлюкс+обструкція

Одже, всі пацієнти з відкритою венозною виразкою належать до останньої, шостої клінічної стадії та кодуються як С6. Що стосується інших параметрів класифікації, вони можуть різнитися.

Оцінка болю та якості життя пацієнтів після комплексного лікування.

Усім пацієнтам обох груп перед початком лікування та після трансплантації СК КК, на 5, 10 та 14 добу, проводили оцінку інтенсивності болю за десятибальною цифровою рейтинговою шкалою. На бланку для оцінки болю розміщувалися дві рівномасштабні шкали (рис. 2.3.): візуально-цифрова, мімічна – візуально-аналогова шкала (ВАШ).

ШКАЛА БОЛЮ



Рис 2.3. Шкала оцінки інтенсивності болю.

Для оцінювання якості життя пацієнтів із хронічними трофічними виразками обрано шкалу CIVIQ-20 (CIVIQ-20 – Chronic Venous Insufficiency Questionnaire) [29, 94, 99, 100, 101].

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.

Пацієнт повинен був обрати та підкреслити одну відповідь на запитання у вигляді кількості балів від 1 до 5, що відображають рівень обмеження його фізичної, психологічної, соціальної активності та інтенсивність болю впродовж останніх чотирьох тижнів. Для проведення оцінки якості життя пацієнта анкетування проводили до операції, через 1 та 6 місяців після операції.

2.7. Методики статистичного аналізу

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакета прикладних статистичних програм SPSS for Windows 10.0 та STATISTICA 10. Перевірку рівності генеральних дисперсій проводили за допомогою критерію Фішера. Порівняння двох залежних груп при нормальному розподіленні ознак – за допомогою t-критерію Ст'юдента для залежних груп, а при наявності різниць між групами (при $p < 0,05$) – попарне порівняння груп з використанням непараметричного тесту Манна-Вітні та поправки Бонфроні. Порівняння двох груп з якісними ознаками – за допомогою критерію χ^2 (хі-квадрат). Дані в таблицях представлені у вигляді $M \pm m$, де M – середня, m – похибка середньої. Ймовірність достовірності нульової гіпотези приймали при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ

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 ОКУ «Чернівецька обласна клінічна лікарня» у період 2015–2019 роки. Причиною венозної недостатності даних пацієнтів був діагноз: посттромбофлебітична хвороба нижніх кінцівок, С6 за СЕАР.

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. Розподіл хворих за статтю наведений в таблиці 3.1.

Середній вік пацієнтів склав в дослідній $57,3 \pm 2,3$ роки та $58,4 \pm 2,8$ роки в контрольній групі.

Таблиця 3.1

Розподіл хворих за статтю та віком

Вік пацієнтів	Дослідна група		Контрольна група	
	жінки	чоловіки	жінки	чоловіки
40–60р	6	2	8	3
>60 р	4	2	4	3
Всього	n=14		n=18	
	10	4	12	6

Критерієм включення були:

– пацієнти, які в анамнезі вже перенесли оперативні втручання по корекції венозної гіпертензії, якщо такі були показані;

– відсутність ефекту від базисної терапії в стаціонарних та амбулаторних умовах і загальним часом існування виразкового дефекту не менше 2-х років.

Критерієм виключення були:

- глибина трофічної виразки сягала кісткової тканини або сухожилків;
- наявність хронічного захворювання у фазі загострення;
- наявність онкологічного захворювання або онконастороженості;
- наявність гемодинамічно-вагомих порушень артеріального кровопостачання тканин нижніх кінцівок (змішані виразки);
- цукровий діабет;
- хронічна хвороба нирок IV–V ст., що потребує діалізу;
- застійна кардіоміопатія;
- печінкова недостатність.

Клінічне обстеження проводилося за традиційними правилами і складалося із збору анамнезу, дослідження загального та локального статусу. Усі пацієнти обстежувалися по органах і системах, при цьому особлива увага приділялася зовнішньому огляду уражених кінцівок. Нижні кінцівки ретельно оглядалися з усіх боків при природньому денному освітленні, в горизонтальному та вертикальному положеннях пацієнта. Враховувались характер і ступінь трофічних порушень нижніх кінцівок, наявність симетричних уражень на обох кінцівках, зміна форми нігтів і випадіння волосся. Вимірювалась довжина окружності нижніх кінцівок на різних рівнях, у порівнянні з контралатеральною. Обов'язковою умовою обстеження було визначення пульсації магістральних артерій нижніх кінцівок на різних рівнях. Усім пацієнтам дослідної та контрольної груп проводилось комплексне обстеження: визначення групи крові та Rh-фактору; загальний аналіз крові; біохімічний аналіз крові; коагулограма; загальний аналіз сечі; електрокардіографія; доплерографія артеріальної та венозної систем нижніх

кінцівок; чоловіча або жіноча онкопанель (для виявлення онкологічних захворювань або онконастороженості); флюорографія органів грудної клітини.

Окрім основних скарг (табл. 3.2) на наявність та біль в ділянці виразкового дефекту, що тривало не загоюється, у пацієнтів зустрічались ще і ряд клінічних симптомів характерних для порушення венозного відтоку від нижніх кінцівок, а саме: набряки уражених кінцівок, які посилювались надвечір і не повністю зникали після нічного відпочинку; нічні судоми в литкових м'язах; свербіж шкіри; наявність венозної екземи шкіри навколо виразки; відчуття «важкості» в нижніх кінцівках, субфебрильна температура тіла ввечері; загальна слабкість.

Таблиця 3.2

Основні скарги пацієнтів з трофічними виразками

Скарги пацієнтів	Кількість обстежених, n (%)
Біль в ділянці виразки	32 (100 %)
Набряк кінцівки	32 (100 %)
Нічні судоми м'язів гомілки	18 (56 %)
Свербіж шкіри	24 (75 %)
Екзема шкіри	12 (36 %)
Субфебрильна температура	8 (25%)
Відчуття «важкості» в нижніх кінцівках	32 (100 %)
Загальне слабкість	21 (67 %)

Усім пацієнтам перед госпіталізацією проводили ультразвукове кольорове ангіосканування нижніх кінцівок та таза з визначенням плечо-гомількового індексу (ПГІ). За необхідності пацієнтів консультували кардіолог, невролог, ендокринолог та інші спеціалісти. Переважна більшість пацієнтів обох груп страждала на трофічну виразку тільки на одній кінцівці, проте у 5 хворих виявляли ураження на обох нижніх кінцівках (рис. 3.1).



Рис. 3.1. Розподіл хворих за кількістю уражених кінцівок.

Розміри хронічних венозних виразок були від $3,5 \times 3,0$ см до 8×10 см діаметром та від 0,5 см до 1,5 см глибиною.

Доплерографічно у всіх пацієнтів обох груп визначався рефлюкс венозної крові в системі глибоких вен уражених кінцівок. Патологічний рефлюкс крові по поверхневих венах слугував критерієм виключення.

При проведенні аналізу розповсюдження патологічного рефлюксу крові у глибокій венозній системі щодо анатомічних ділянок виявлено, що найчастіше вражався стегно-підколінний сегмент (рис. 3.2).

Виявлено, що локалізація ранових дефектів шкіри у більшості хворих обох груп була по медіальній поверхні нижньої третини гомілки і зустрічалась у 21 пацієнтів (70 %), а у 6-и (20 %) латеральній та передній поверхнях обох гомілок. У 5-и (10 %) пацієнтів були множинні ураження, тобто одночасно було декілька відкритих виразок різної локалізації на обох гомілках (рис. 3.3).

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

(рис 3.4) вводилась клітинна суспензія з наступними параметрами: вміст ядровмісних клітин – $0,11 \times 10^9$ 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+ та CD117+ CD45+, дорівнював відповідно $(0,85 \pm 0,20)$ та $(1,52 \pm 0,39)$ %. Життєздатність клітин – $(80 \pm 10 \%)$.

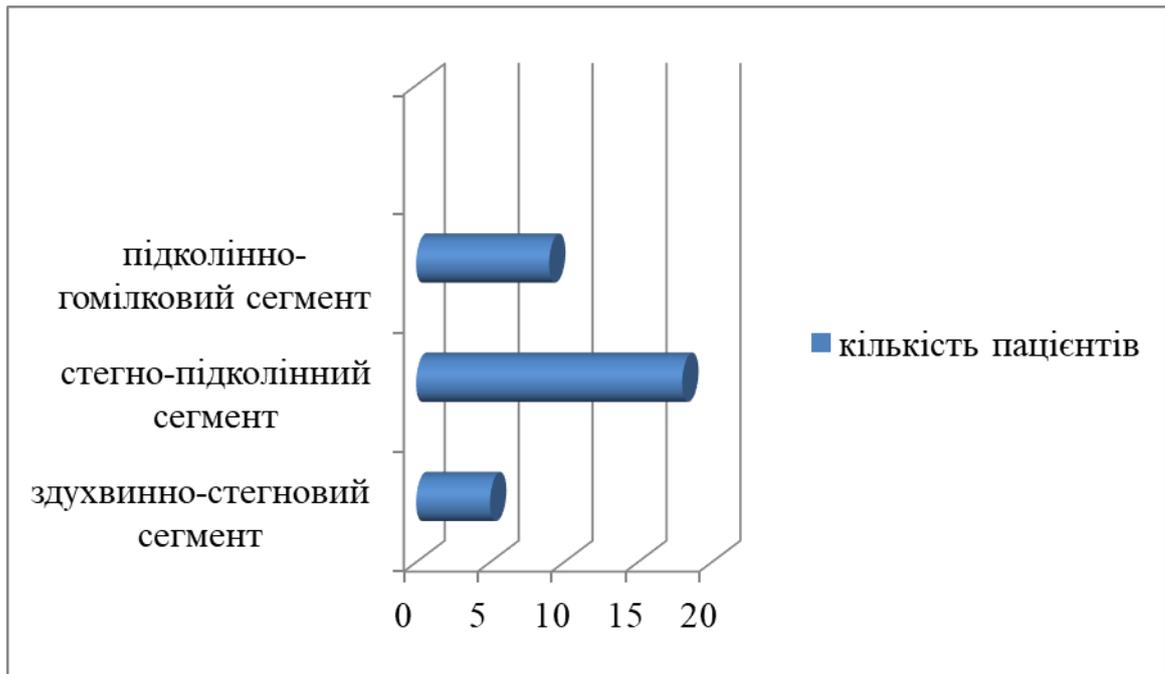


Рис. 3.2. Розповсюдження патологічного рефлюксу крові у глибокій венозній системі відносно анатомічних ділянок.

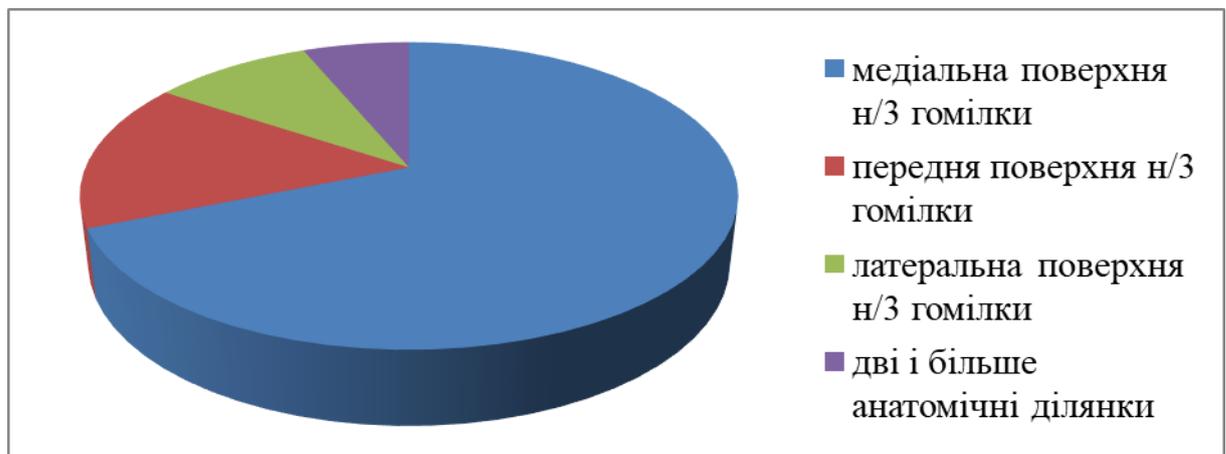


Рис. 3.3. Розподіл хворих за локалізацією ранових дефектів шкіри.



Рис. 3.4. Введення клітинної суспензії: вміст ядровмісних клітин – $0,11 \times 10^9$ до $3,7 \times 10^9$, кількість мононуклеарів – 15–60 %, КУО-ГМ – $(50 \pm 10) \times 10^3$ /мл, вміст гемопоетичних клітин, що несуть на своїй поверхні маркери CD34+ CD45+ та CD117+ CD45+, дорівнював відповідно $(0,85 \pm 0,20)$ та $(1,52 \pm 0,39)$ %. Життєздатність клітин – 80 ± 10 %.

Групу контролю склали 18 пацієнтів, які отримували стандартну консервативну терапію яка передбачала:

- веноактивні препарати (ВАП) – детралекс 1000 мг/добу упродовж одного місяця;

– антибіотики (після визначення чутливості), тривалістю від 7 до 14 діб; Призначення антибактеріальної терапії дорослим пацієнтам із виразкою нижніх кінцівок рекомендовано лише за наявності симптомів/ознак вторинної інфекції (наприклад почервоніння; набряк, що поширюється за межі виразки; локальна гіпертермія; посилення болю або підвищення температури тіла). При виборі антибактеріального препарату необхідно враховувати вираженість симптомів/ознак запального процесу; ризик розвитку ускладнень; попереднє застосування антибактеріальних препаратів.

– місцево щоденні перев'язки з волого-висихаючими пов'язками з антисептиками (розчин декаметоксину);

– еластична компресія з використанням компресійного трикотажу III-го класу;

– знеболююча терапія, нестероїдні протизапальні препарати;

– десенсибілізуючі.

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 68649 «Спосіб визначення швидкості загоєння ран» [36a].

У дослідження включено 32 пацієнта з трофічним виразками нижніх кінцівок венозної етіології, що тривало не загоюються, які були розподілені на дві групи репрезентативні за віком, статтю, тривалістю захворювання для вивчення особливостей впливу стовбурових клітин кордової крові.

Основні положення розділу 3 опубліковані в роботах автора: [22], [51].

РОЗДІЛ 4**РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ**

При дослідженні гістологічних особливостей виразки шкіри на третю добу експерименту встановлено, що виразки мають неоднакову глибину в різних ділянках, зокрема, по краям дефекти неглибокі (рис. 4.1).

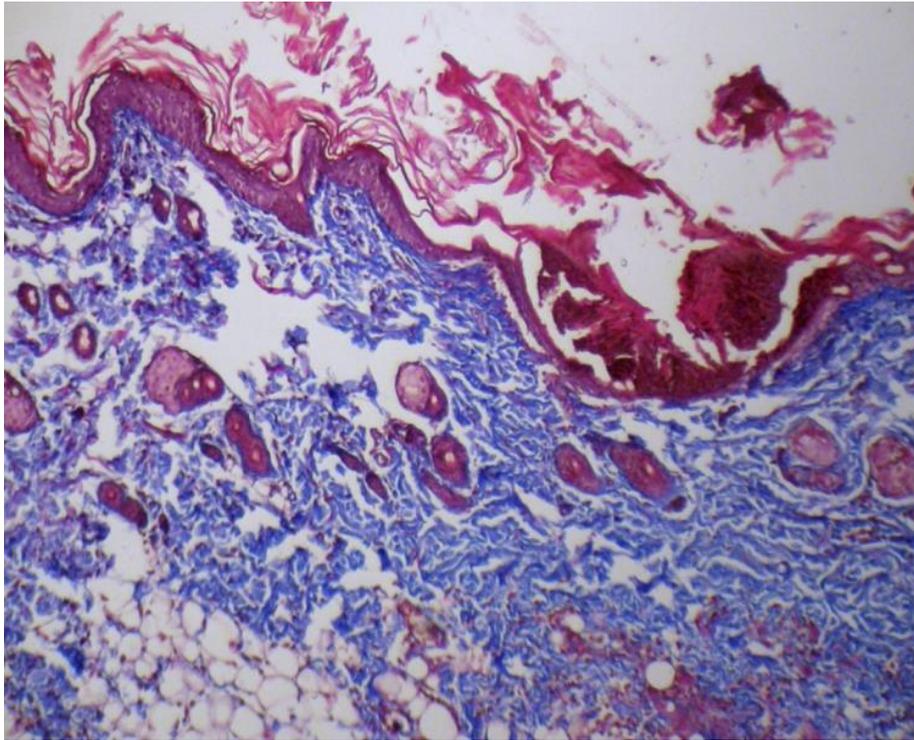


Рис. 4.1. Третя доба експерименту. Перша група. Периферійні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

Це повні дефекти багат шарового 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 центру і в центральних частинах виразкові дефекти досягають місцями клітковину, при цьому потові та сальні залози, волосяні фолікули по ходу дефектів повністю зруйновані, в цих місцях відзначаються крововиливи (рис. 4.2).

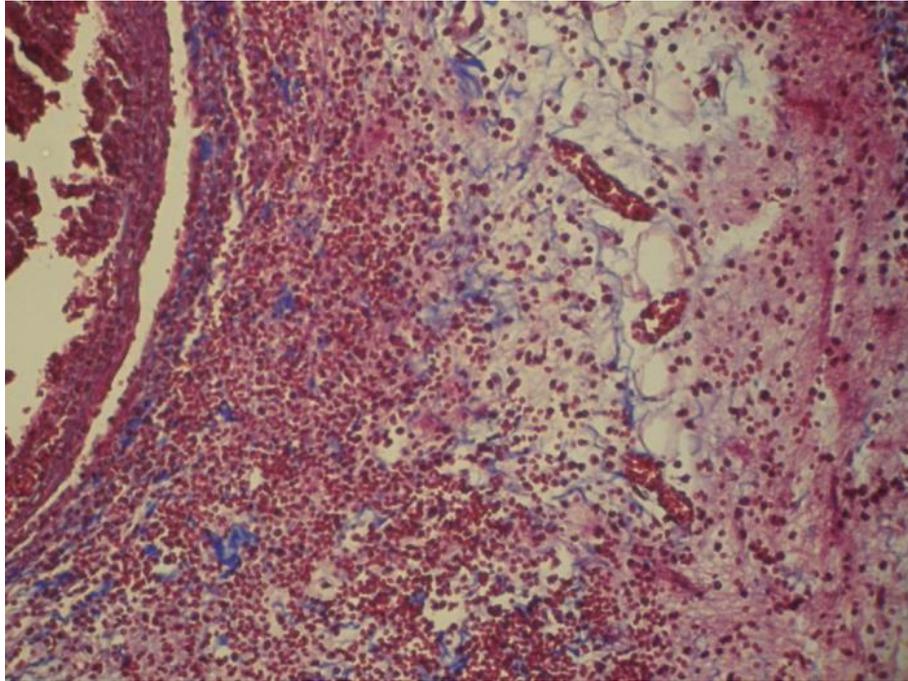


Рис. 4.2. Третя доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

Навколо них розміщуються окремі клітини круглястої форми (типу лімфоїдних). Такі ж клітини у невеликій кількості розміщуються у підлеглих м'язах (рис. 4.3). Проте клітини типу лімфоїдних відсутні у клітковині (рис. 4.4).

На серійних зрізах при постановці імуногістохімічної методики на віментин, видно, що вказані клітини мають слабе забарвлення (рис. 4.5), переважно в 1 бал 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 та розмірів виразкових дефектів аналогічна третій добі експерименту, однак, з'являються й нові особливості.

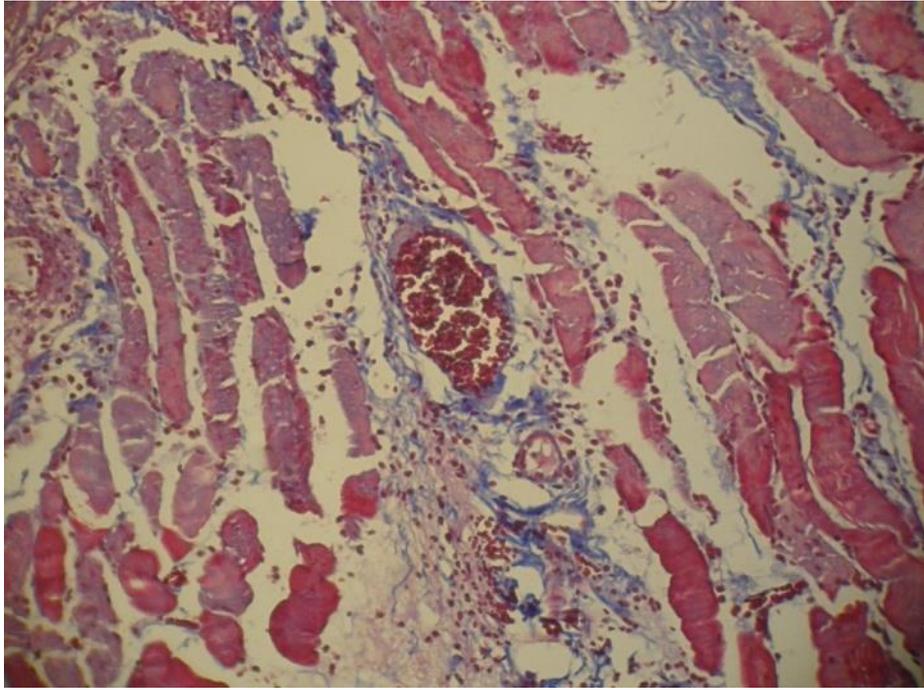


Рис. 4.3. Третя доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

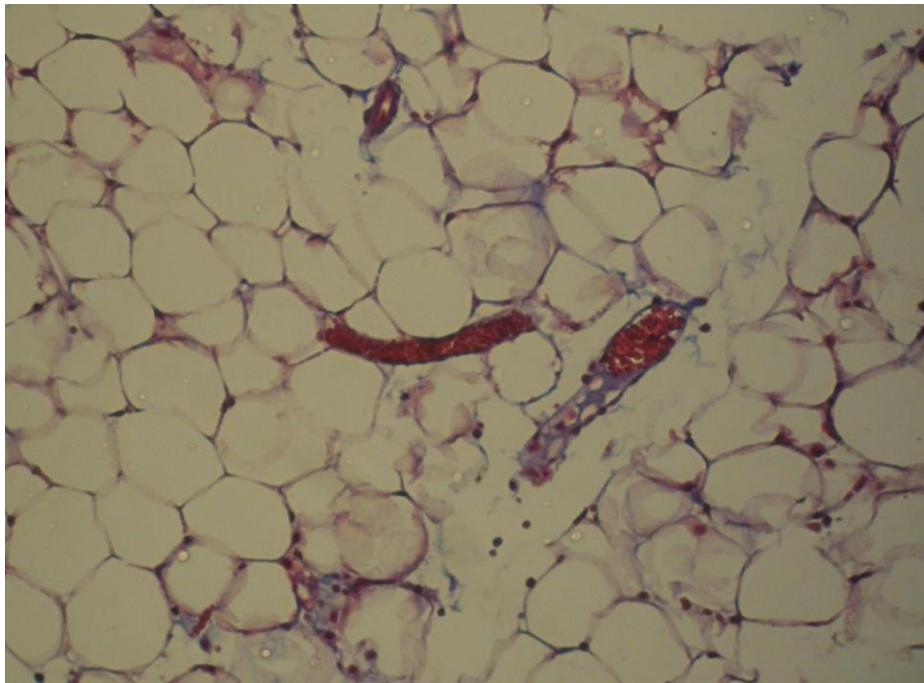


Рис. 4.4. Третя доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

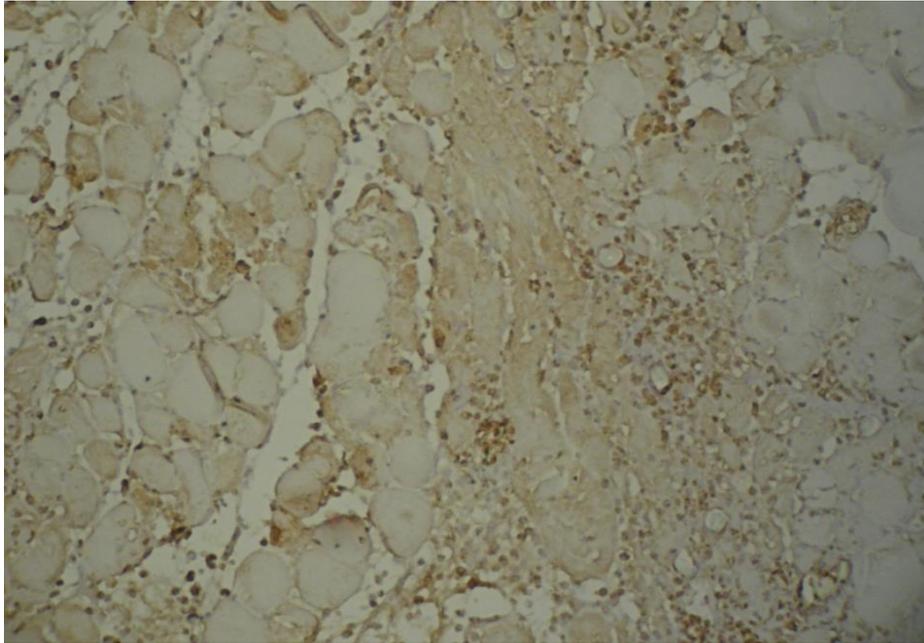


Рис. 4.5. Третя доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x.

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 (рис. 4.6).

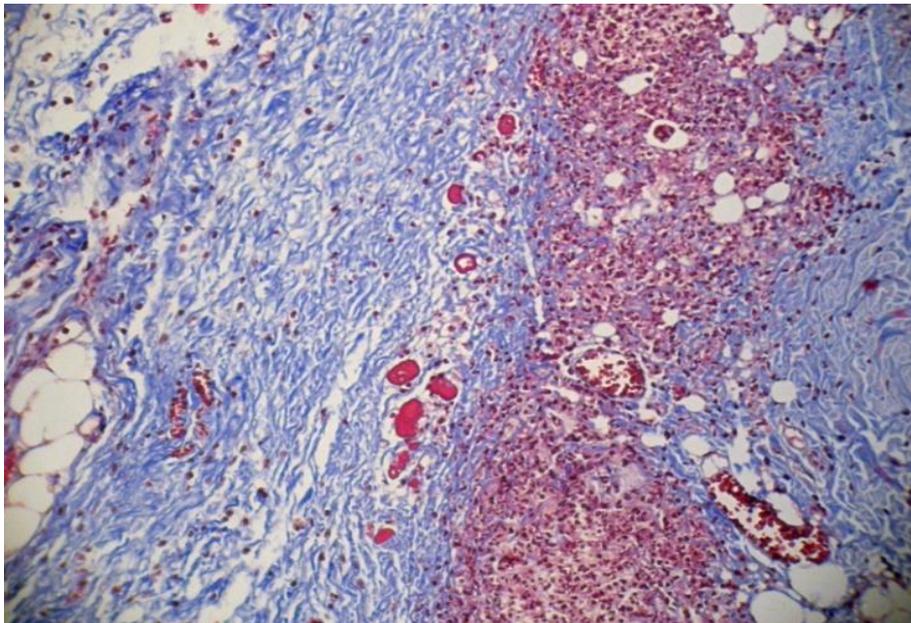


Рис. 4.6. П'ята доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

Також дещо зростає число таких клітин у підлеглих м'язах (рис. 4.7). Імуногістохімічна методика на віментин проявляє гетерогенне забарвлення цих клітин – від 1 до 3 балів (рис. 4.8), що, вірогідно, вказує на те, що частина з них диференціюється в звичайні клітини фіброзної тканини.

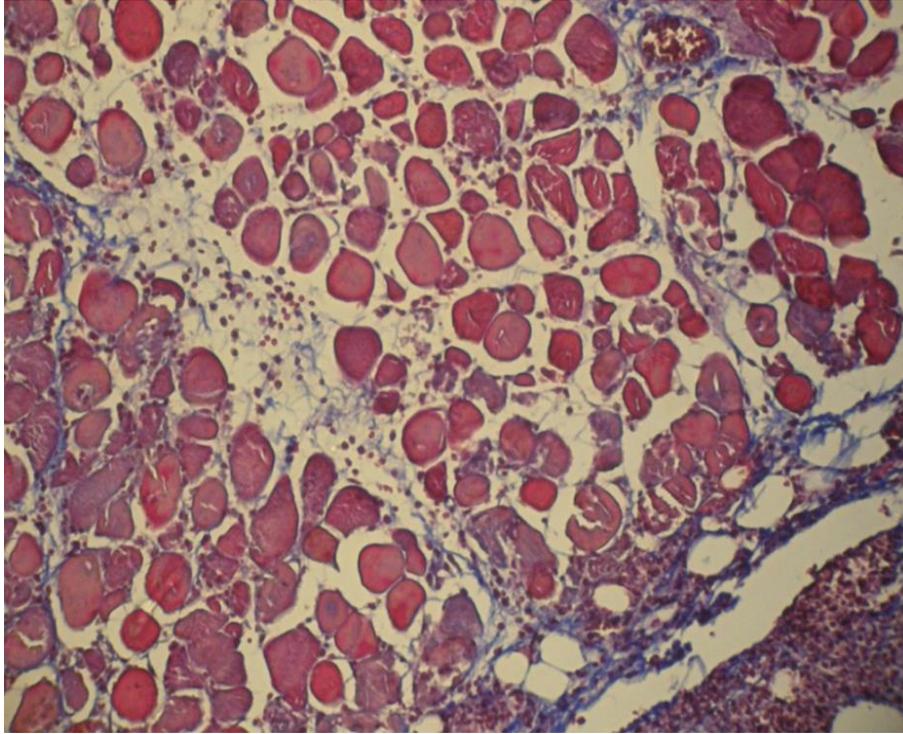


Рис. 4.7. П'ята доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

З'являються окремі фібробласти – клітини веретеноподібної форми з видовженим ядром (рис. 4.8), що підтверджує наявність процесів диференціювання поліпотентних клітин у сполучнотканинні.

Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда дозволила виявити невеликі компактні групи позитивно забарвлених клітин (рис. 4.9), які слід оцінити як осередки ангіогенезу (початок утворення нових кровоносних судин), що також позитивно впливає на процес регенерації.

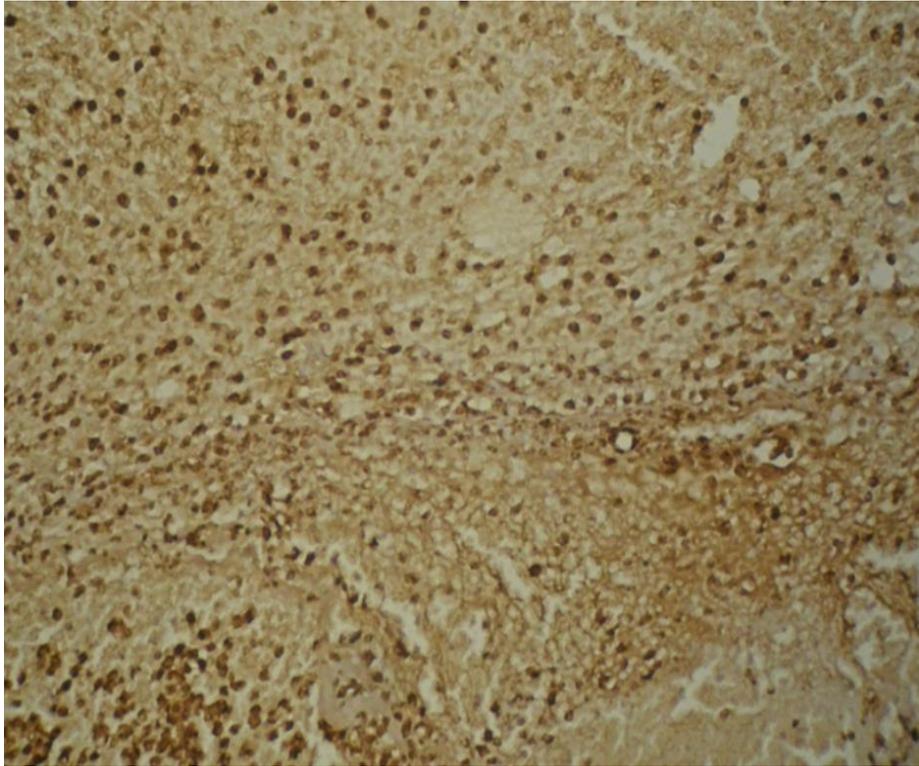


Рис. 4.8. П'ята доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x.

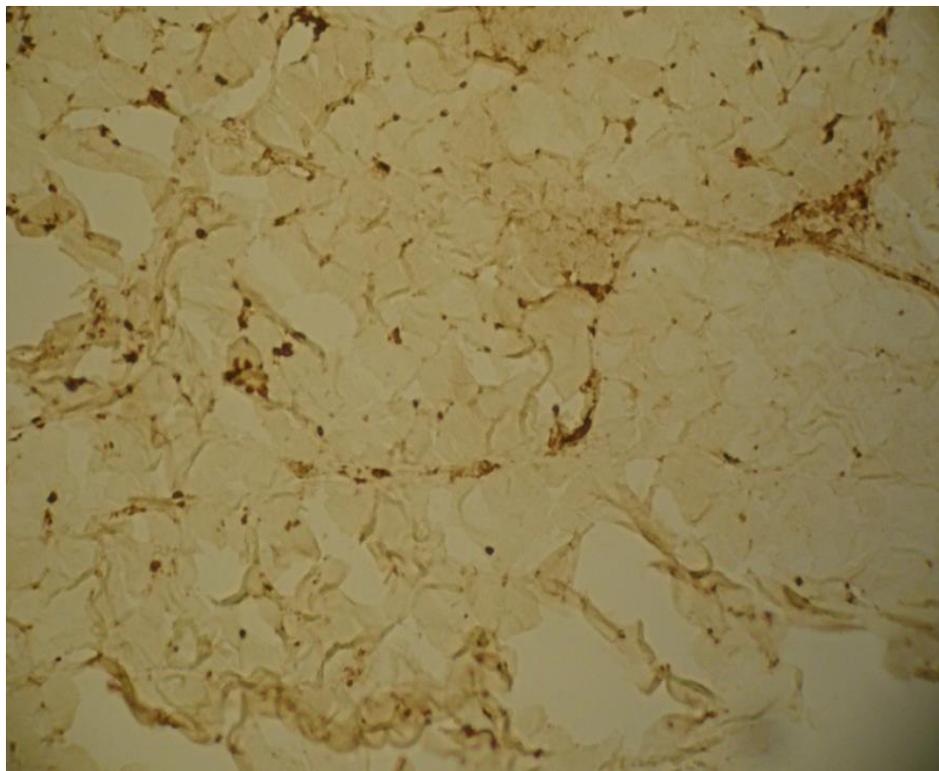


Рис. 4.9. П'ята доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20^x. Ок.10^x.

У щурів, яким вводили стовбурові клітини на 5-у добу експерименту характеристика форми та розмірів виразкових дефектів аналогічна описаній, але відмічені й суттєві відмінності.

Так, по контуру виразкового дефекту не знайдено судин з некротичними явищами та просяканням фібрину, що слід оцінити як позитивний ефект, який сприяє загоєнню виразки.

Вал лімфоїдних клітин також присутній, але він у 2–3 рази потужніший (рис. 4.10).

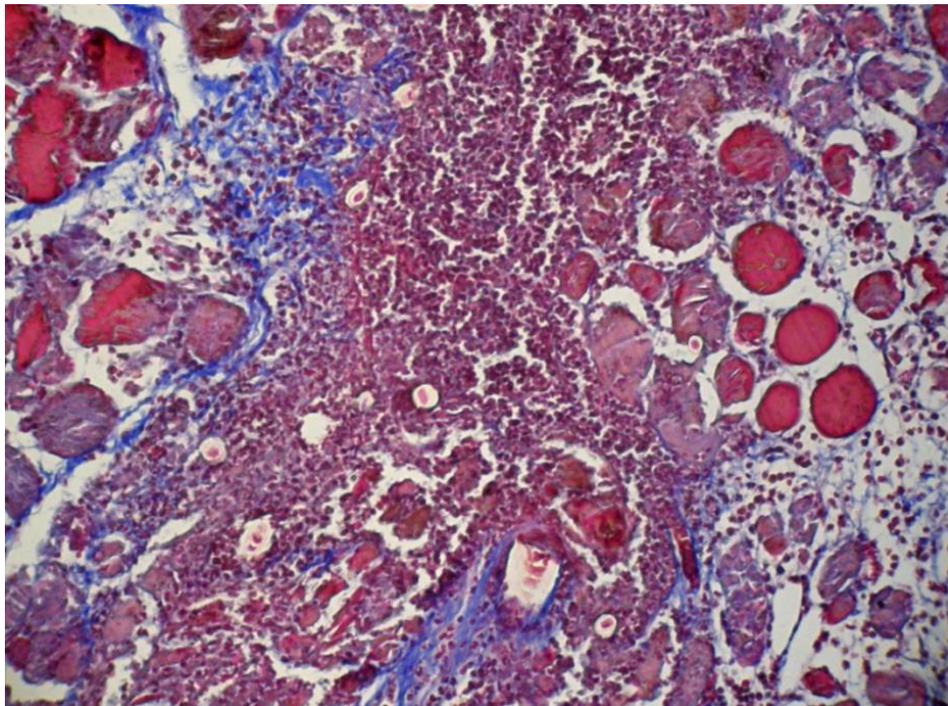


Рис. 4.10. П'ята доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

Лімфоїдні клітини у середньому більш диференційовані, на що вказує більший ступінь імуногістохімічного забарвлення на віментин (рис. 4.11).

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 (рис. 4.12), що можна розцінити, як більш активний ангиогенез, у порівнянні з групою тварин, яким не вводили стовбурові клітини.

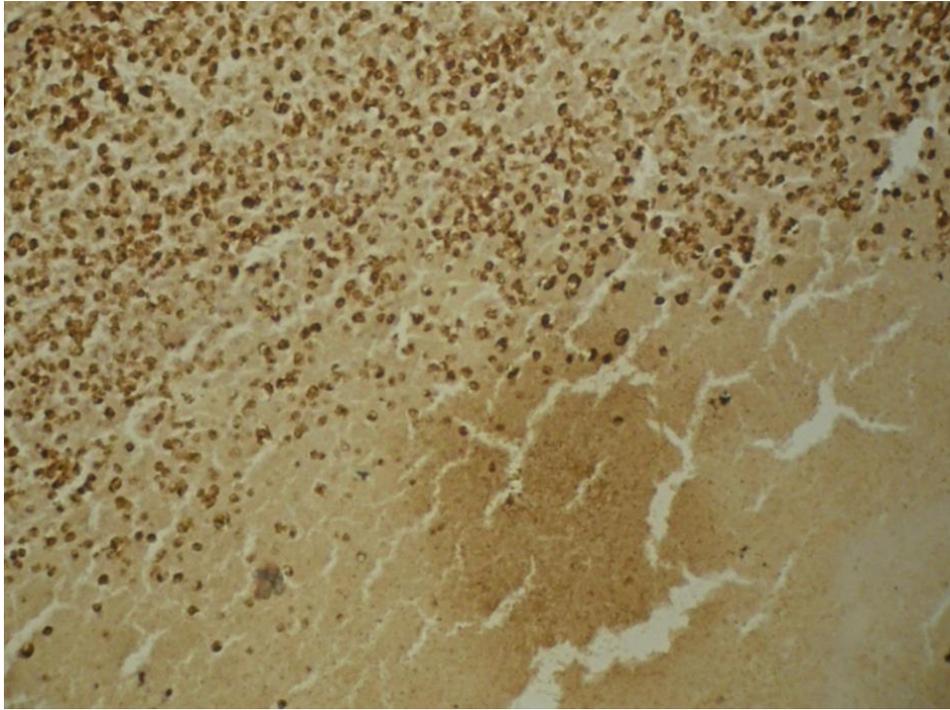


Рис. 4.11. П'ята доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x.

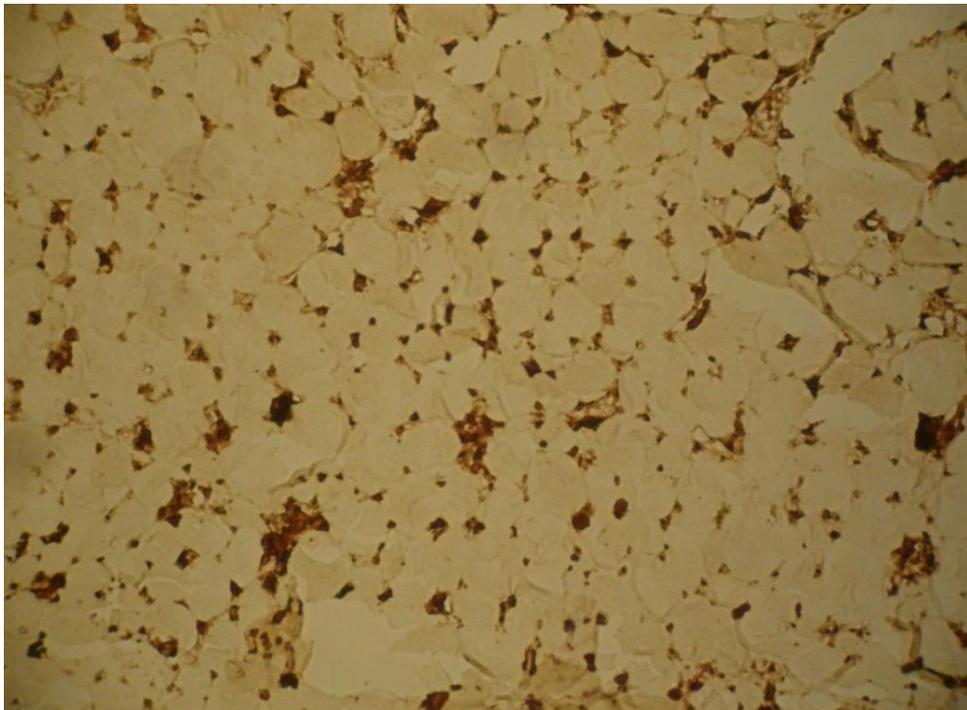


Рис. 4.12. П'ята доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20^x. Ок.10^x.

На 10-ту добу експерименту характерною відмінністю від 5-ї доби експерименту є те, що кількість лімфоїдних клітин продовжує зростати як по контуру виразки (рис. 4.13), так і в підлеглих м'язах (рис. 4.14).

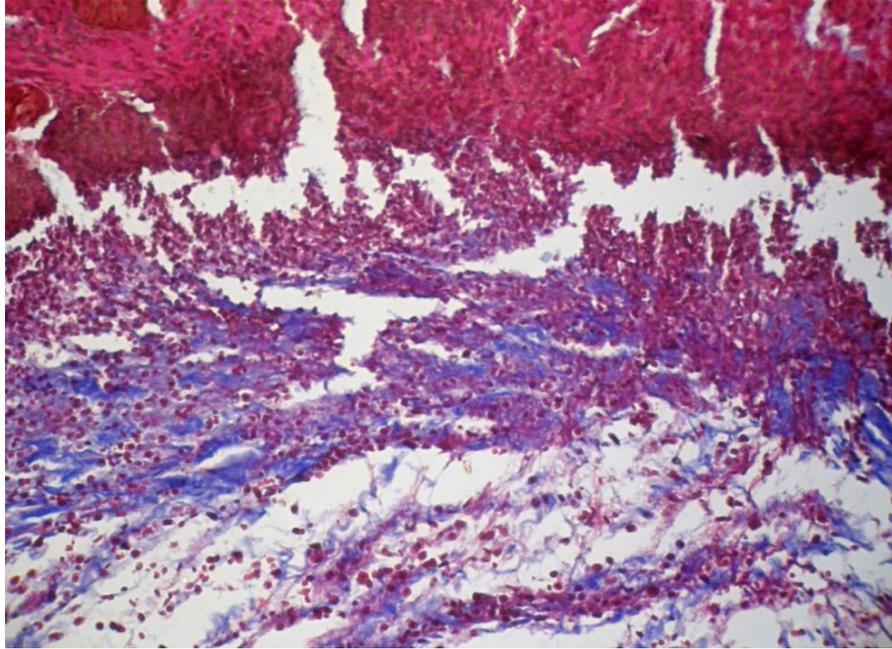


Рис. 4.13. Десята доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

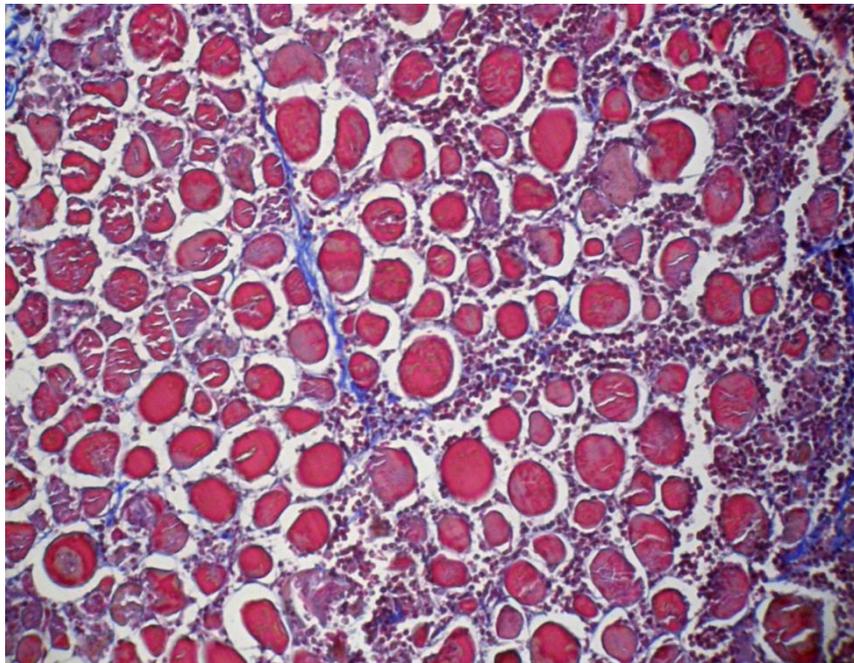


Рис. 4.14. Десята доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

У тварин, яким вводили стовбурові клітини, присутність лімфоїдних клітин і надалі є більш потужною (рис. 4.15 та рис. 4.16).

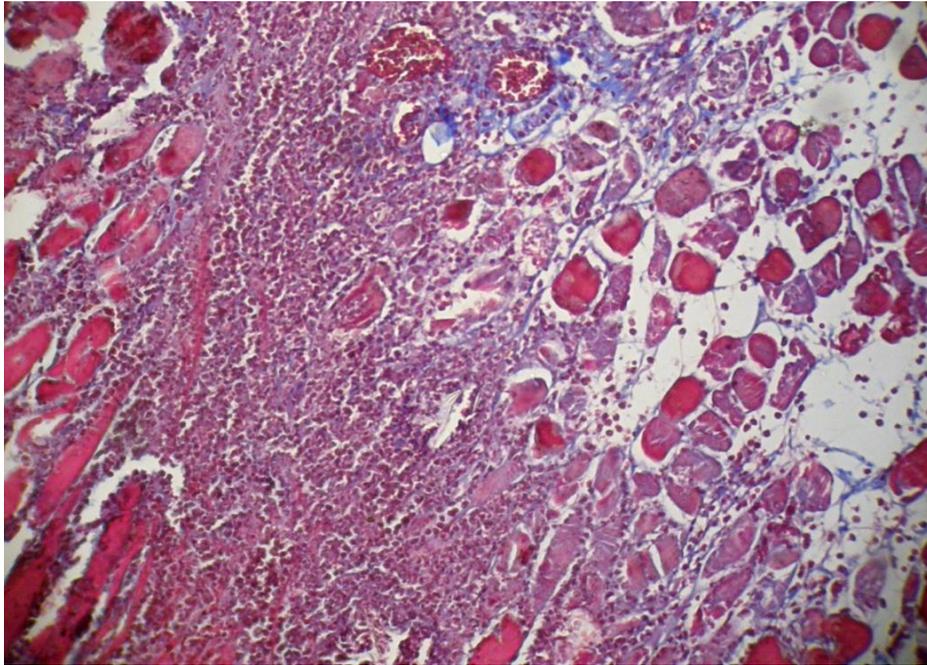


Рис. 4.15. Десята доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Збарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

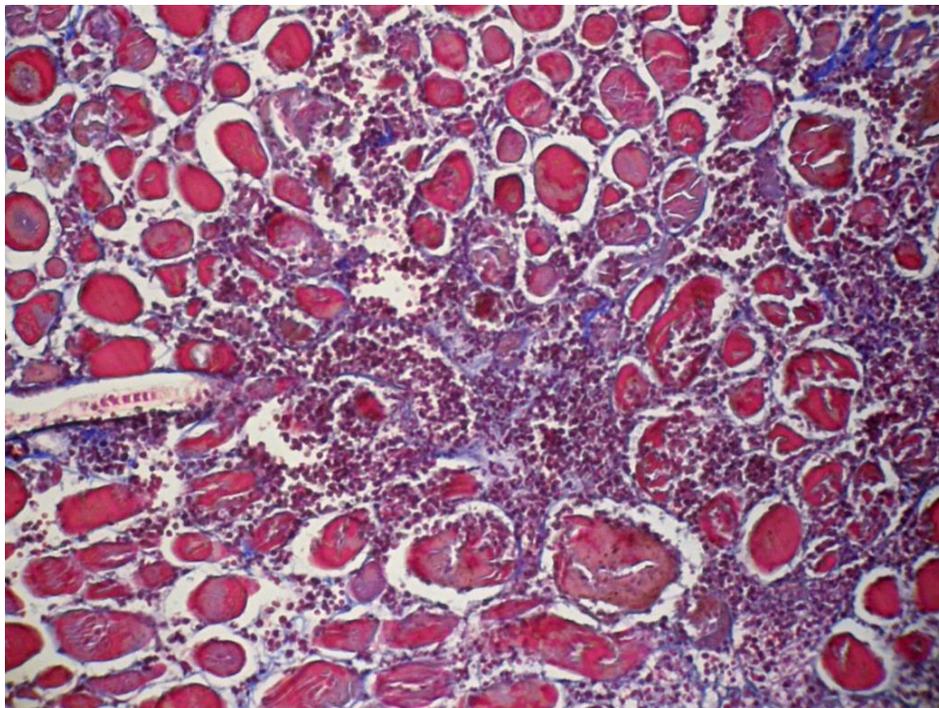


Рис. 4.16. Десята доба експерименту. Перша група Центральні відділи виразки. Збарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

Ступінь диференціювання цих клітин згідно імуногістохімічної методики на віментин зростає (рис. 4.17), що більше виражено у щурів, яким вводили стовбурові клітини (рис. 4.18).

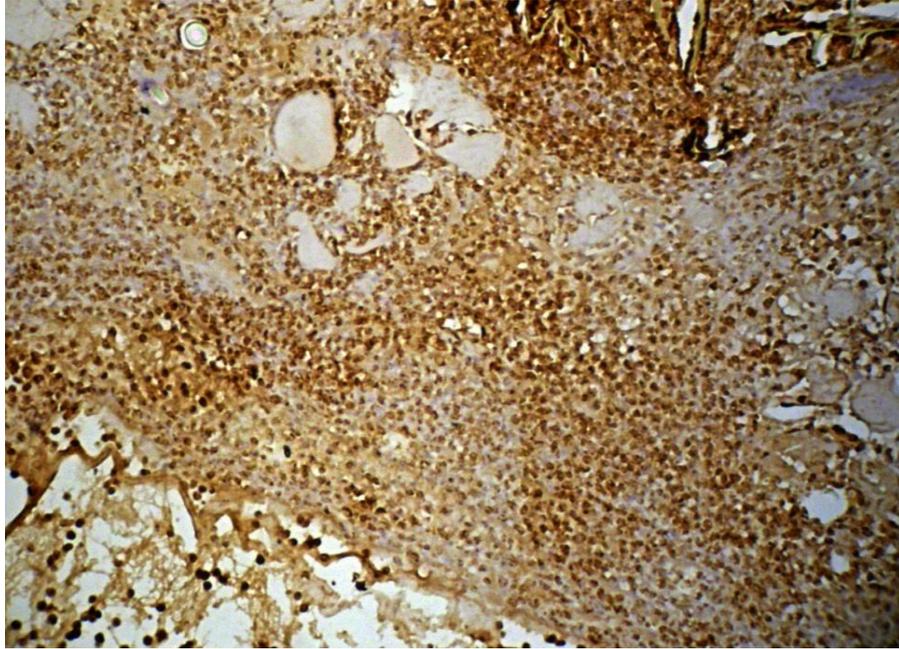


Рис. 4.17. Десята доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} . Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

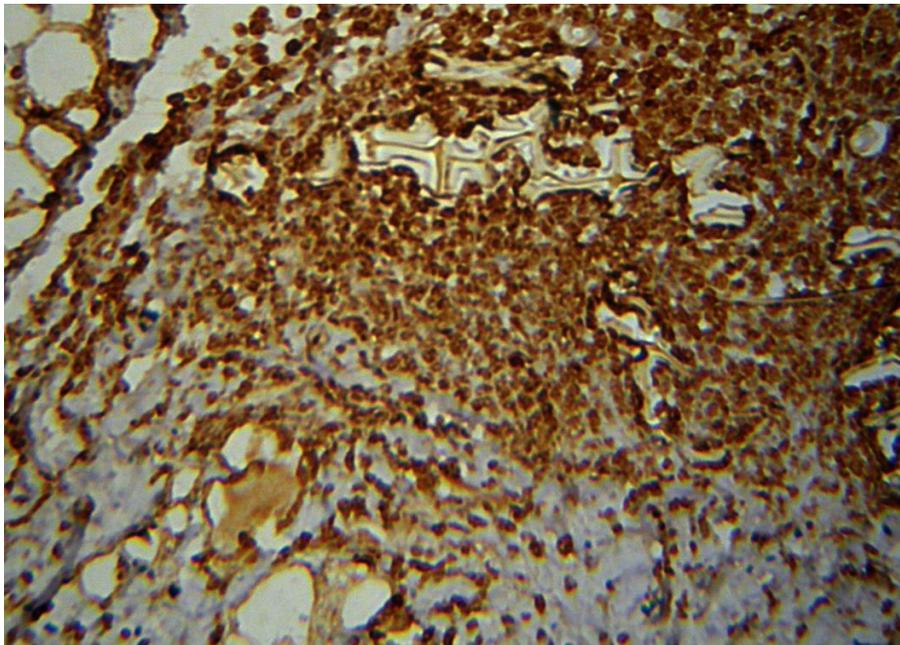


Рис. 4.18. Десята доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} . Об. 40^{\times} . Ок. 10^{\times} .

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 заміщене 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 відзначити, 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 $38 \pm 2,4$ %) (рис. 4.19, 4.20).

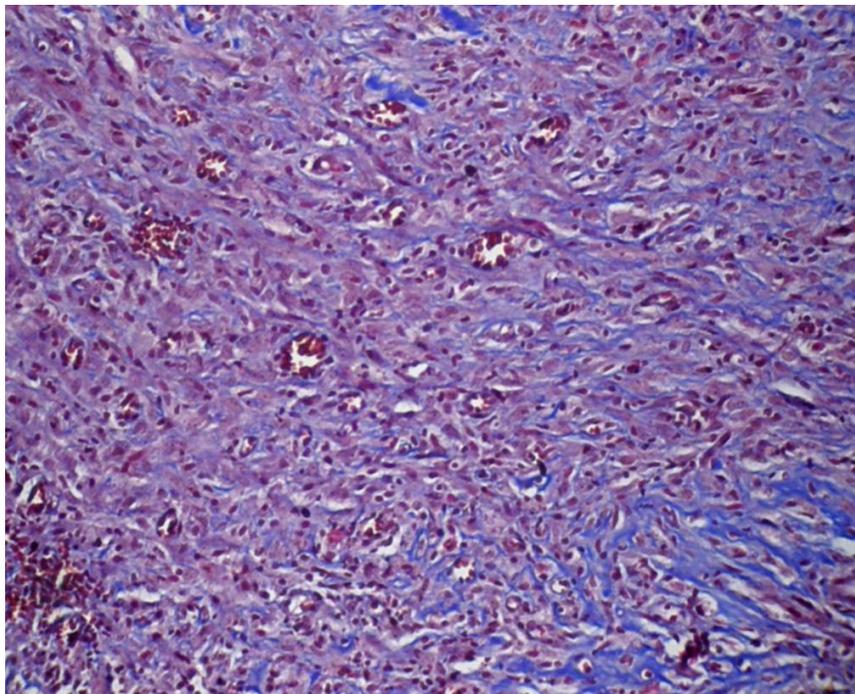


Рис. 4.19. 21-ша доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

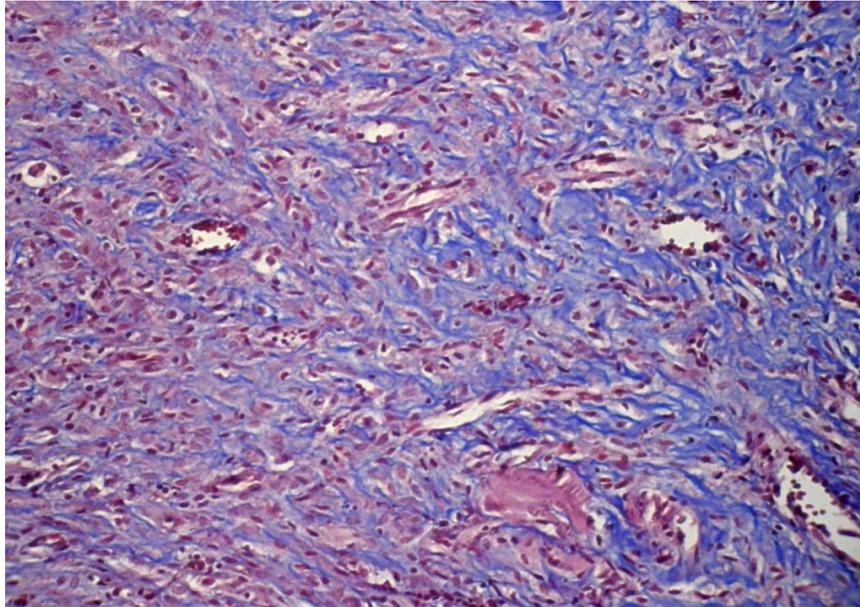


Рис. 4.20. 21-ша доба експерименту. Перша група. Введення стовбурових клітин. Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

Віментин-позитивні клітини переважно мають фібробластне диференціювання (рис. 4.21 та 4.22).

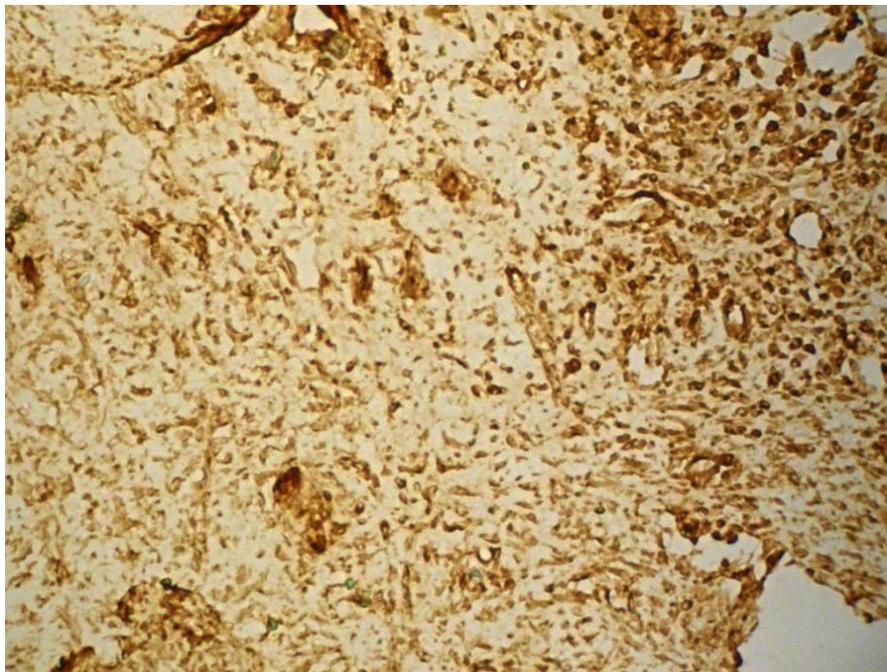


Рис. 4.21. 21-ша доба експерименту. Друга група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x. Об. 40^x. Ок.10^x.

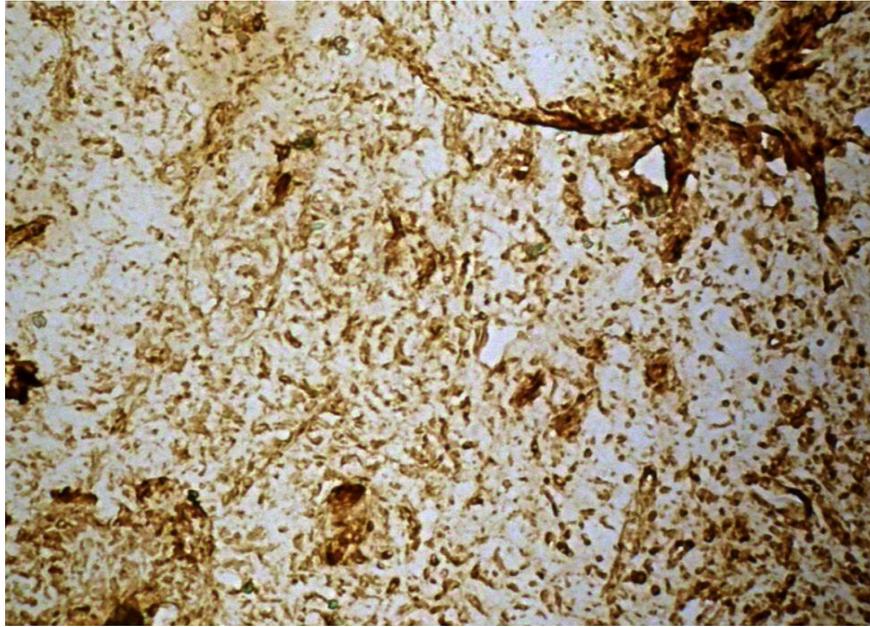


Рис. 4.22. 21-ша доба експерименту. Перша група. Центральні відділи виразки. Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} . Об. 40^{\times} . Ок. 10^{\times} .

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.

Отже, базуючись на результатах експериментального дослідження можна констатувати, що трансплантація клітин кордової крові сприяє активації власних механізмів регенерації та, відповідно, призводить до швидшого заживленню виразкового дефекту у тварин дослідної групи в порівнянні з контрольною. Отриманні дані дають можливість перейти до наступного, клінічного етапу дослідження, щодо можливості використання трансплантації клітин кордової крові в комплексному лікуванні пацієнтів з трофічними венозними виразками, що тривало не загоюються.

Основні положення розділу 4 опубліковані в роботах автора [7], [17], [18], [20], [23], [27], [28], [105].

РОЗДІЛ 5

ГІСТОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КОРДОВОЇ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ

Мікроскопічні дослідження клінічного матеріалу (біоптати) виразок шкіри (гістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні) проведені в динаміці спостереження за пацієнтами на 5-у та 14-у 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 щурах. Мікроскопічні дослідження виконані на основі описового методу забарвлення гістологічних зрізів (забарвлення гематоксиліном і еозином), гістохімічного методу на колагенові волокна та фібрин (забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко) та імуногістохімічного методу для виявлення віментину (з первинними антитілами до віментину) та фактору Віллебранда (з первинними антитілами до фактору Віллебранда). Матеріал для мікроскопічних досліджень стосується виключно центральних відділів виразки, оскільки пошкодження країв виразки могло би спричинити порушення процесу її крайової епітелізації. Краї ж виразки досліджувалися без мікроскопа – макроскопічно.

При дослідженні гістологічних особливостей центральних відділів виразки шкіри пацієнтів контрольної групи (18 осіб) на п'яту добу після початку лікування встановлено: поверхня дна виразок на всьому протязі вкрита однорідними масами по типу фібриноїдного некрозу (рис. 5.1). Товщина поверхневого фібриноїдного некрозу відчутно коливається від пацієнта до пацієнта, але 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. Колагенові волокна в осередках фібриноїдного некрозу або не спостерігаються, або їх іноді видно у вигляді невеликих фрагментів неправильної форми.

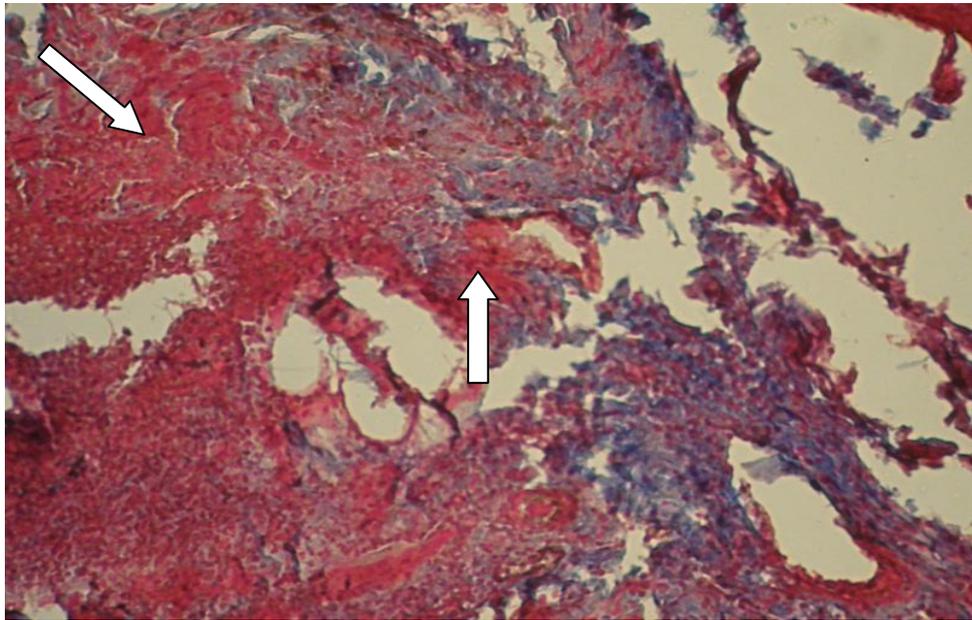


Рис. 5.1. П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. У верхній частині світлини червоне забарвлення відповідає місцю фібриноїдного некрозу (вказано стрілками). Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

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 відзначаються 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 (рис. 5.2).

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 (рис. 5.3).

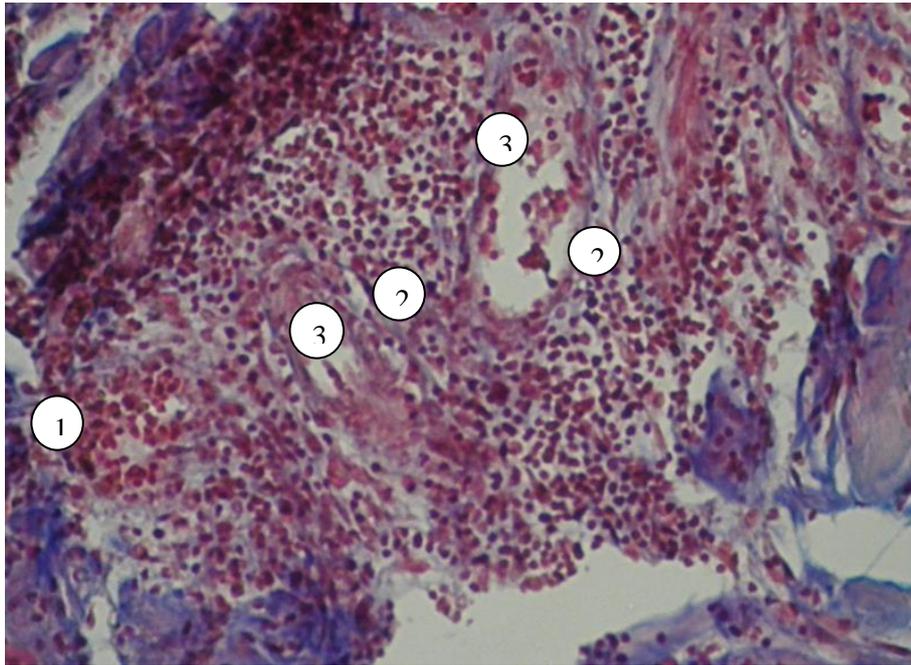


Рис. 5.2. П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. Цифрами позначені: 1. Крововилив. 2. Лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації). 3. Кровоносні судини. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

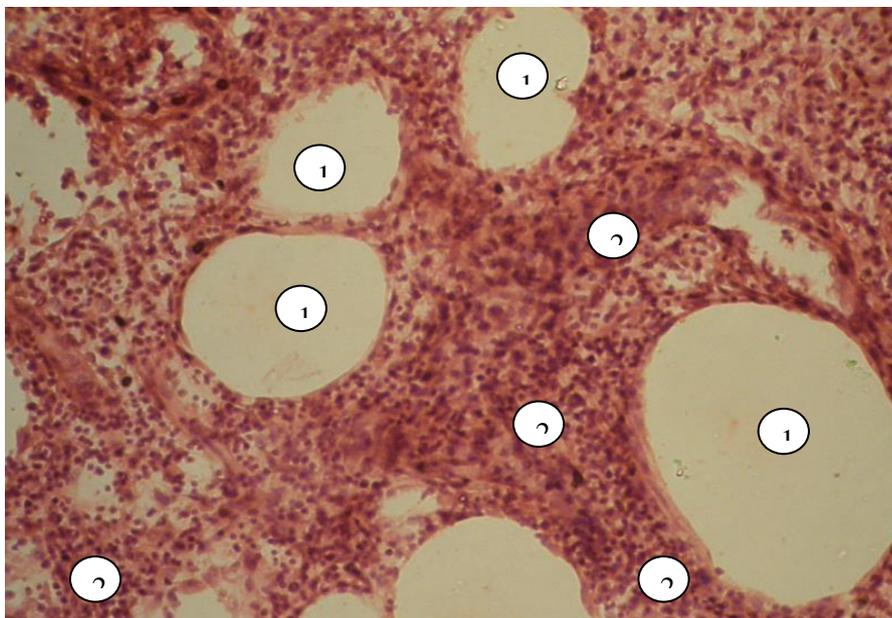


Рис. 5.3. П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки в місці досягання клітковини. Цифрами позначені: 1. Ліпоцити клітковини. 2. Лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

При постановці імуногістохімічної методики на віментин на серійних зрізах у пацієнтів з контрольної групи, видно, що лімфоїдні клітини грануляційної тканини мають слабе забарвлення (рис. 5.4) інтенсивністю переважно в один бал за чотирибальною шкалою (від 0 до 3 балів), що може свідчити про належність цих клітин до класу поліпотентних (стовбурових).

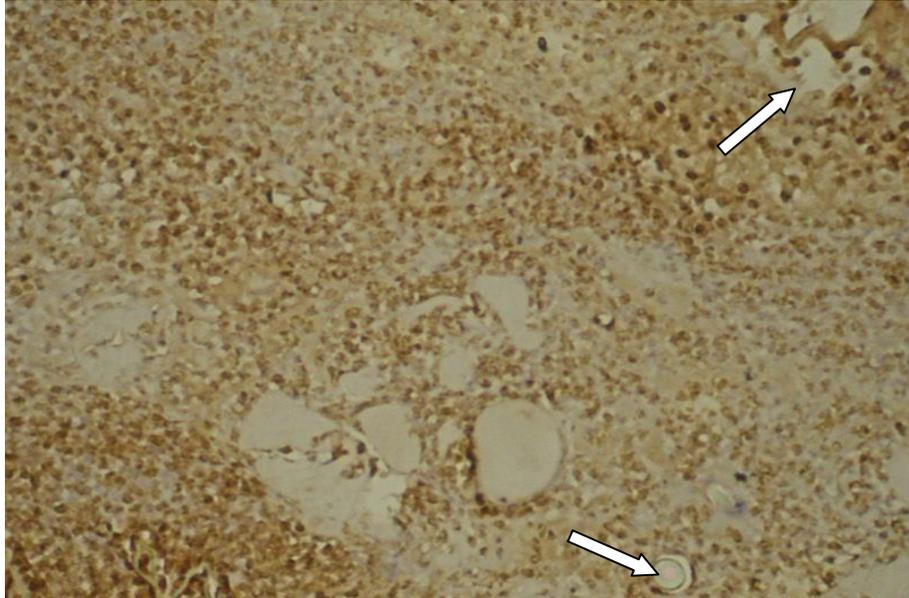


Рис. 5.4. П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. В полі зору переважно круглясті клітин типу лімфоїдних із слабким забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин (вказані стрілками). Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x.

Імуногістохімічна методика на фактор Віллебранда у пацієнтів контрольної групи в грануляційній тканині дозволила виявити нерівномірно розкидані невеликі компактні групи позитивно забарвлених клітин (рис. 5.5), які слід оцінити як осередки новоутворення кровоносних судин, оскільки позитивне забарвлення на фактор Віллебранда у таких накопиченнях клітин можуть давати тільки ендотеліоцити, адже в грануляційній тканині, як відомо, утворюються лише кровоносні судини, а не лімфатичні.

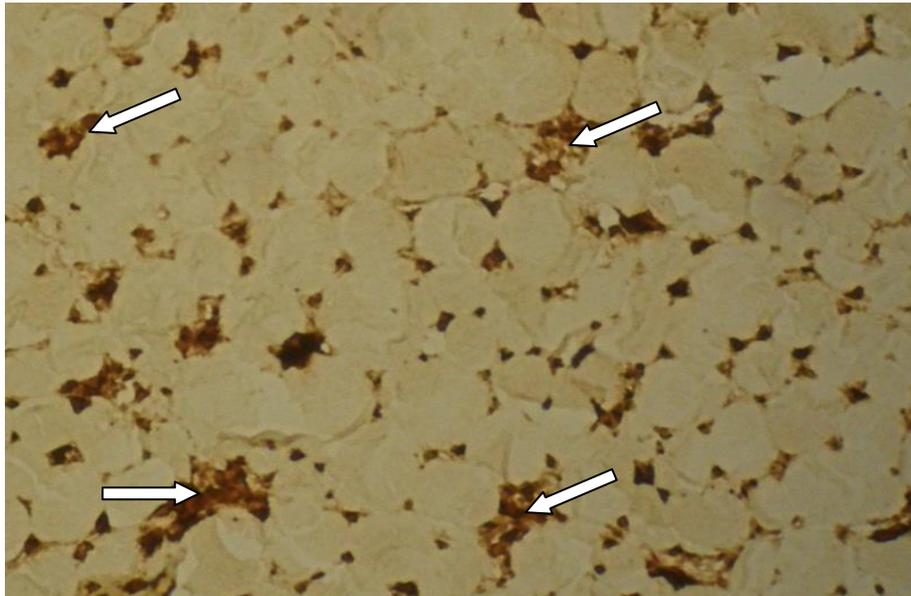


Рис. 5.5. П'ята доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. В полі зору окремі осередки позитивно забарвлених клітин (місце з найбільшою концентрацією груп позитивних клітин). Забарвлення інтенсивне. Найбільш великі осередки вказані стрілками. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20^x. Ок.10^x.

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

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 (рис. 5.6).

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 виповнена лімфоїдними клітинами та тонкостінними кровоносними судинами (рис.5.7).

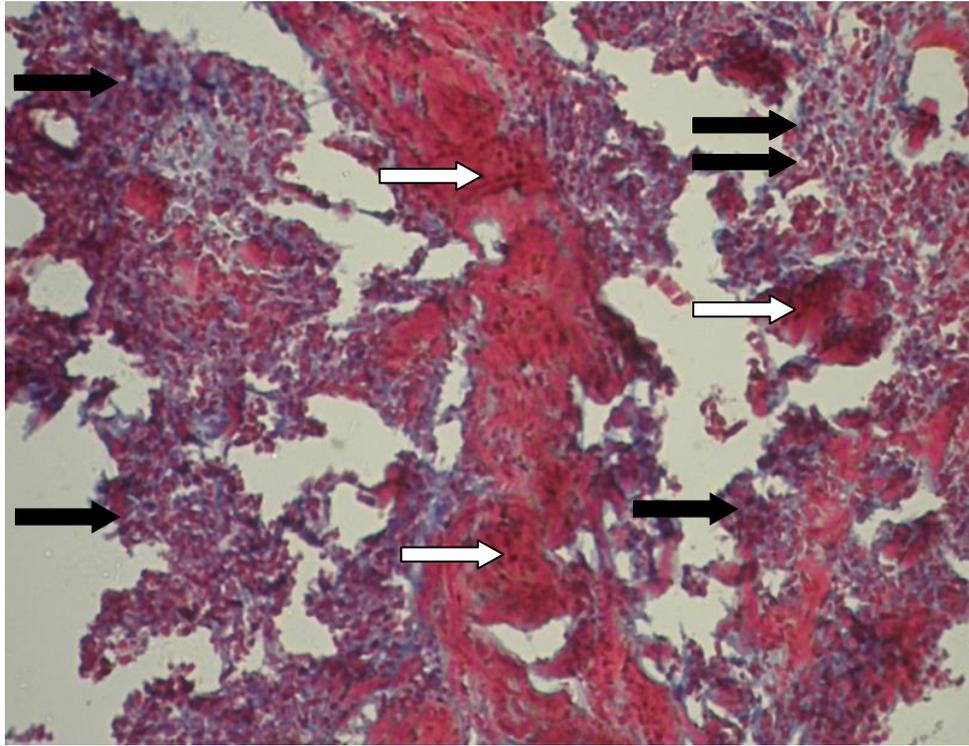


Рис. 5.6. П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Червоне забарвлення відповідає місцю фібриноїдного некрозу (вказано білими стрілками). «Прожилки» з лімфоїдними клітинами вказані чорними стрілками. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок.10^x.

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, можна констатувати, що їх у цілому було значно більше (рис. 5.8).

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 (рис.5.9).

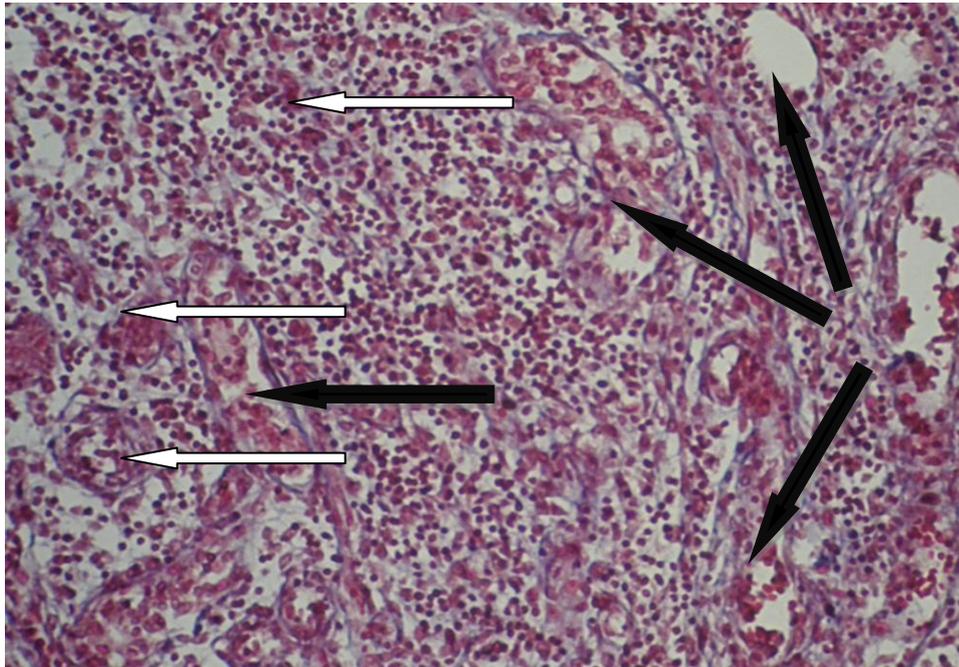


Рис. 5.7. П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times}

Примітки: Білі стрілки: лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації). Чорні стрілки: кровоносні судини.

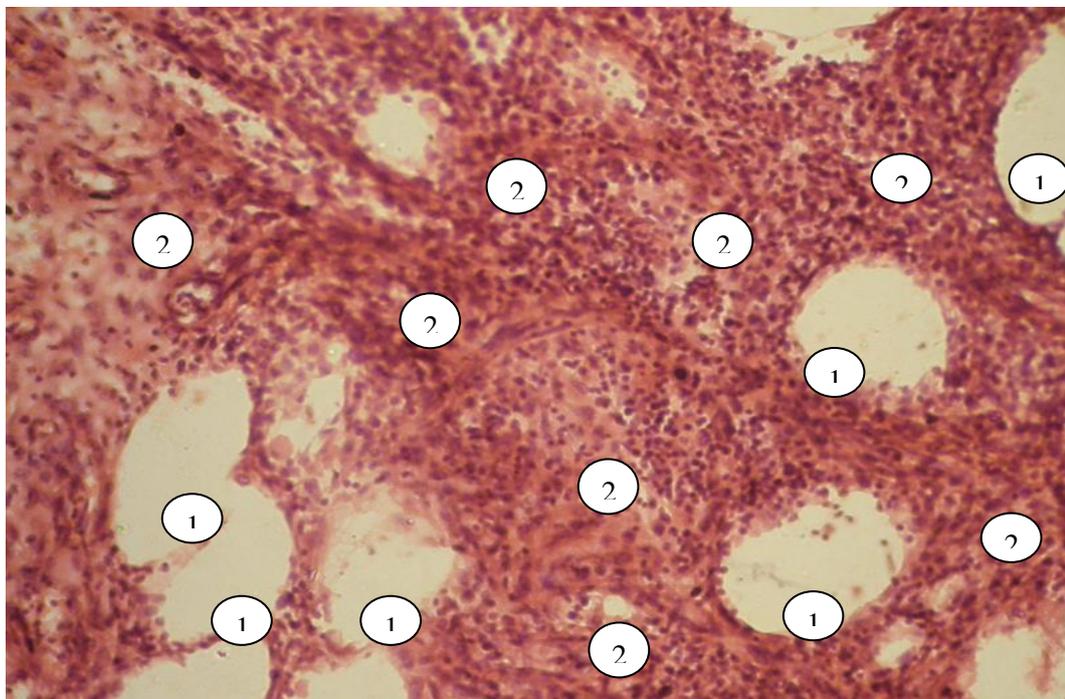


Рис. 5.8. П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки в місці досягання клітковини. Цифрами позначені: 1. Ліпоцити клітковини. 2. Лімфоїдні клітини (місця найбільшої концентрації). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20^{\times} . Ок. 10^{\times} .

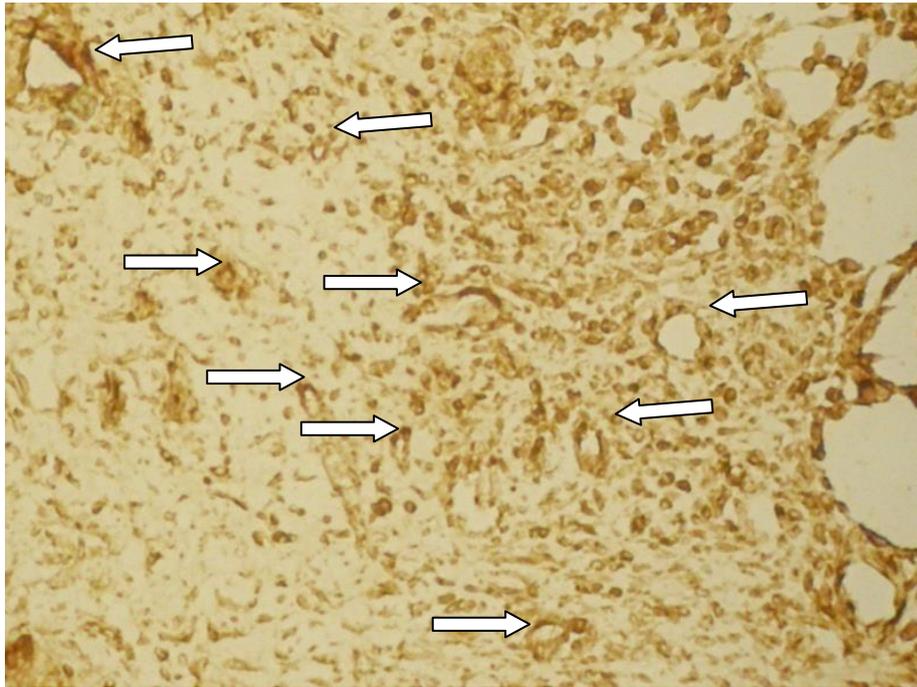


Рис. 5.9. П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. В полі зору переважно круглясті клітин типу лімфоїдних із слабким забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин (вказані стрілками). Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x.

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 (рис. 5.10).

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

некрозу з переривчастим його характером, 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.

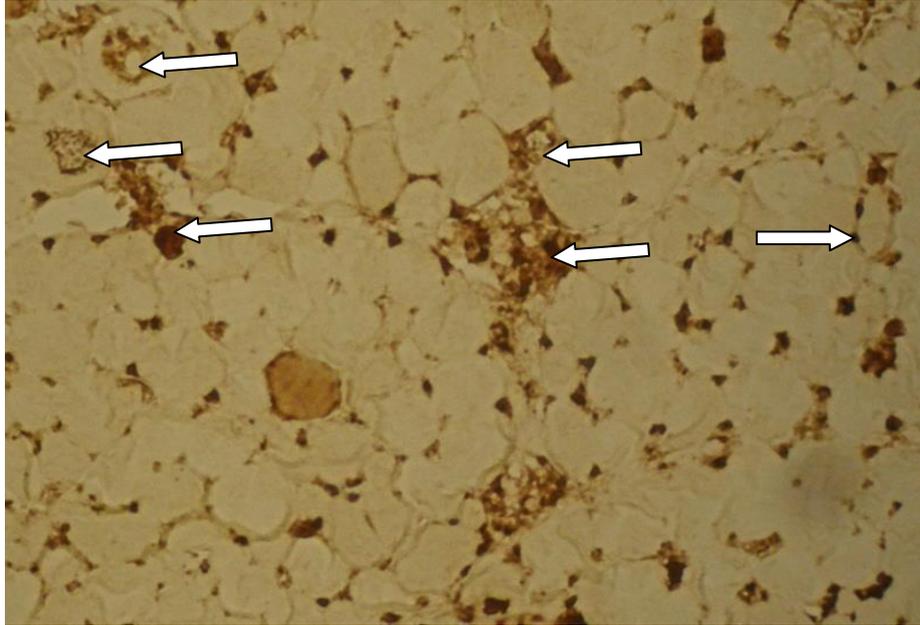


Рис. 5.10. П'ята доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. В полі зору окремі осередки позитивно забарвлених клітин (місце з найбільшою концентрацією груп позитивних клітин). Забарвлення інтенсивне. Найбільш великі осередки вказані стрілками. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20^x. Ок. 10^x.

Усі вищеназвані методи мікроскопічного дослідження були застосовані і на 14-ту добу клінічного дослідження як в контрольній, так і в основній групі.

Отже, на 14-ту добу клінічного дослідження в пацієнтів контрольної групи дослідження відзначалася майже повна відсутність фібриноїдного некрозу (відмічалися лише невеличкі осередки некрозу неправильної форми), а грануляційна тканина містила лімфоїдні клітини та фібробласти приблизно в рівному співвідношенні та кровоносні судини, які розташовувалися нерівномірно (рис. 5.11).

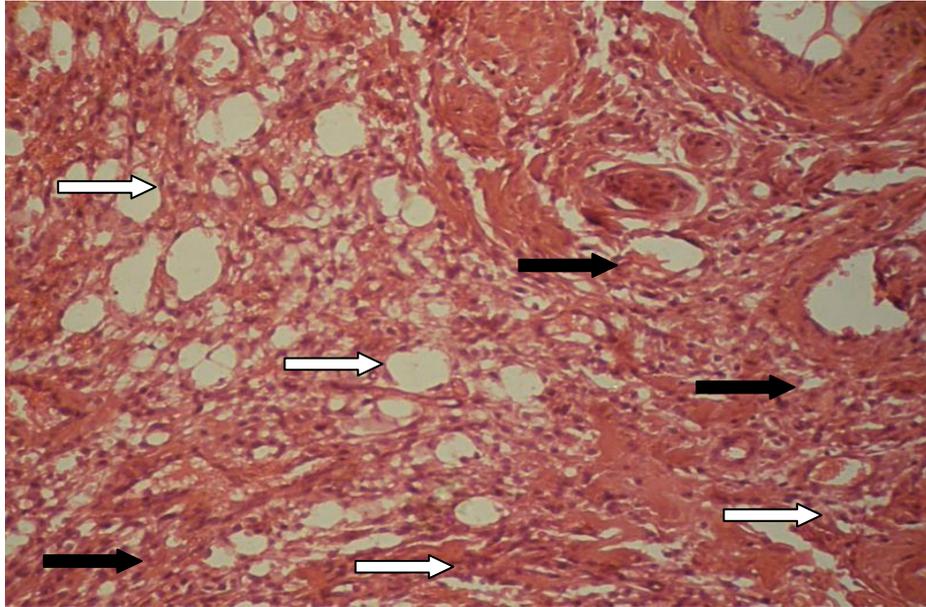


Рис. 5.11. 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. Білими стрілками показані місця розташування фібробластів та лімфоїдних клітин, чорними – кровоносні судини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20^x. Ок.10^x.

Методика фарбування колагенових волокон хромотропом-водним-блакитним за методом Н. З. Слінченка показала, що формування колагенових волокон було нерівномірним – відмічалися осередки слабого утворення колагенових волокон, які чергувалися з ділянками великої концентрації колагенових волокон з сильним забарвленням колагену (рис. 5.12).

В осередках слабого формування колагенових волокон можна було спостерігати більшу відносну кількість лімфоїдних клітин (понад 50 %) та кровоносних судин.

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. (рис. 5.13). Ендотелій кровоносних судин також інтенсивно забарвлювався на віментин. Характерним є те, що розподіл вказаних типів клітин був помітно нерівномірним.

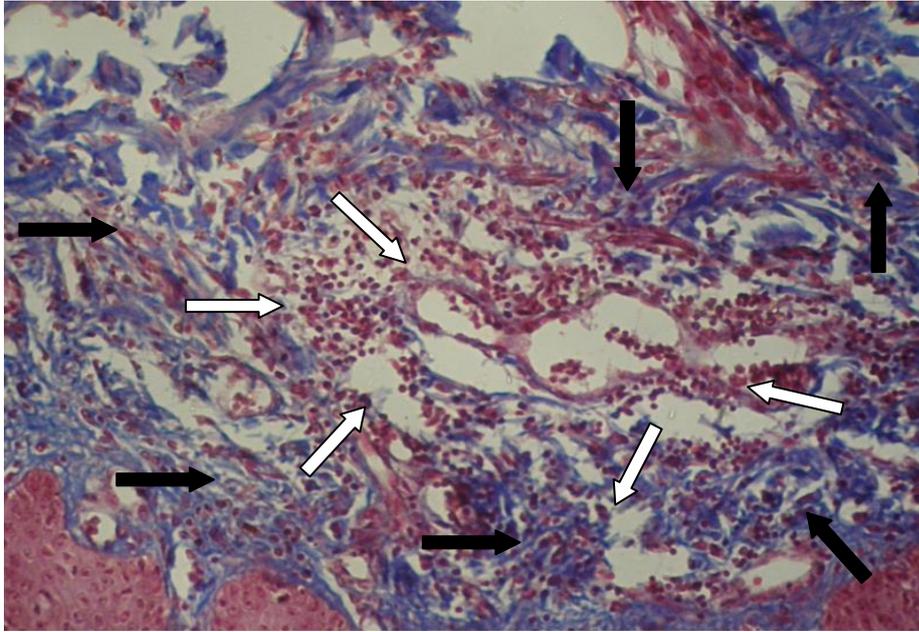


Рис. 5.12. 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. Білими стрілками показано місце слабого утворення колагенових волокон з великою кількістю лімфоїдних клітин фібробластів, кровоносних судин, чорними стрілками показане місце значного утворення колагенових волокон. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слісценко. Об. 20^x. Ок.10^x.

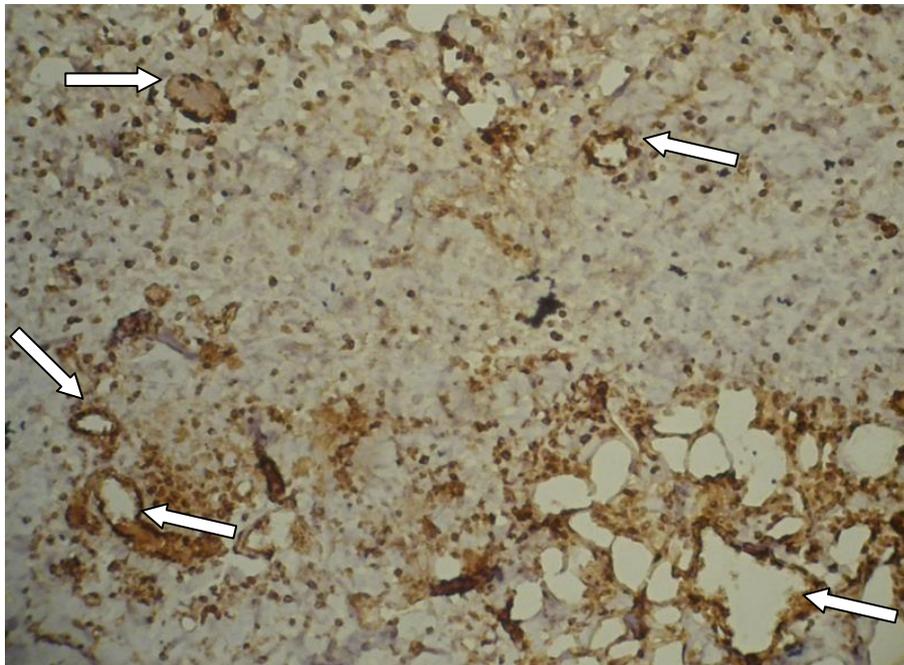


Рис. 5.13. 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. В полі зору круглясті клітин типу лімфоїдних із слабким забарвленням різної інтенсивності на віментин та веретеноподібні об'єкти типу фібробластів з сильним забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин (вказані стрілками). Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x.

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 (рис. 5.14). Як правило, більш інтенсивне позитивне забарвлення на фактор Віллебранда відзначалося у судинах більшого калібру, хоча така закономірність спостерігалася не у всіх кровоносних судинах, були судини більшого калібру з менш інтенсивним забарвленням в ендотеліоцитах, або дрібні судини з більш інтенсивним забарвленням в ендотеліоцитах.

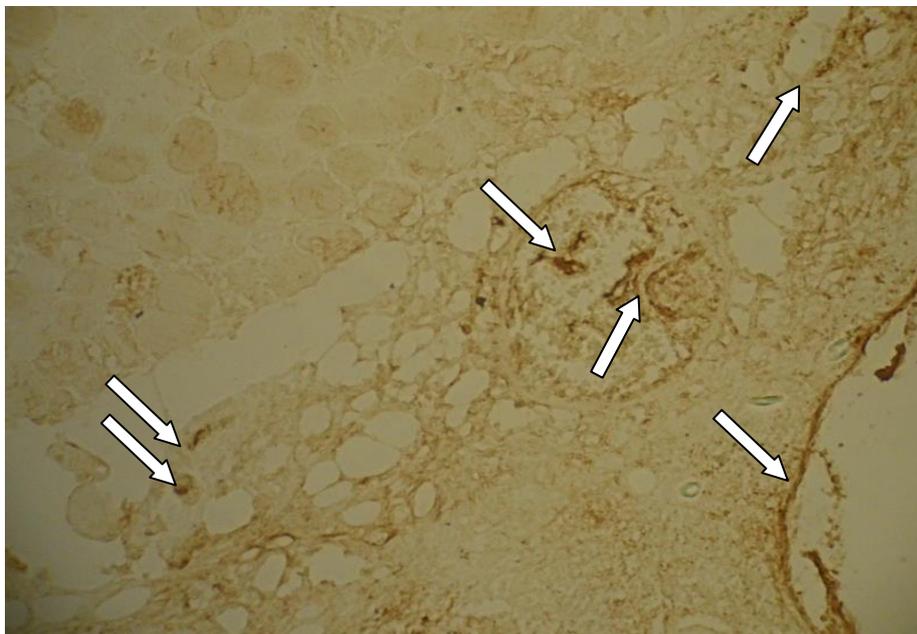


Рис. 5.14. 14-та доба клінічного дослідження (контрольна група). Центральні відділи виразки. Кровоносні судини вказані стрілками. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20^x. Ок.10^x.

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 (рис. 5.15).

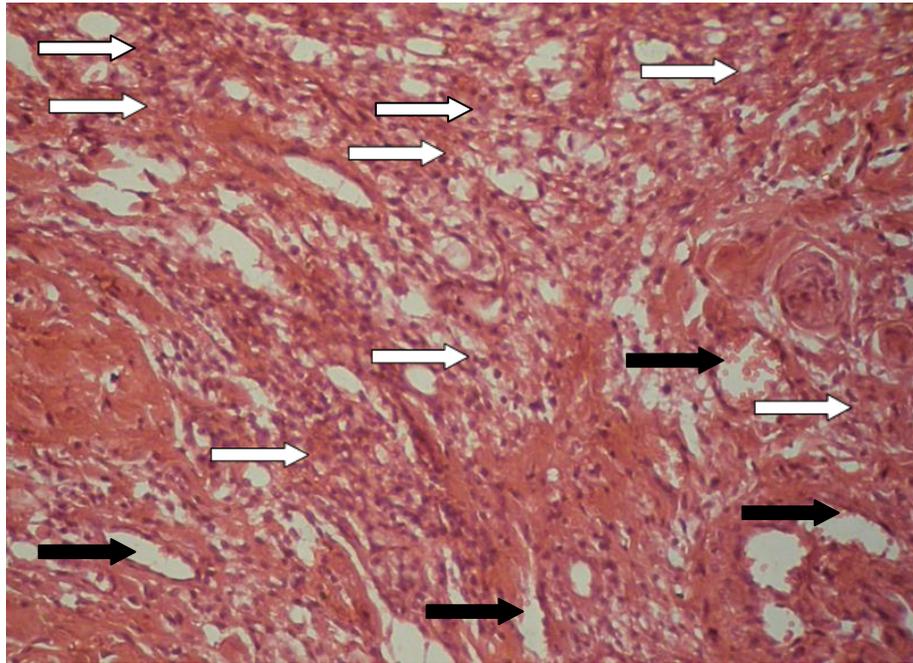


Рис. 5.15. 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Білими стрілками показані місця розташування фіброblastів та лімфоїдних клітин, чорними – кровоносні судини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. 20^x. Ок.10^x.

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.

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 (рис. 5.16), 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.

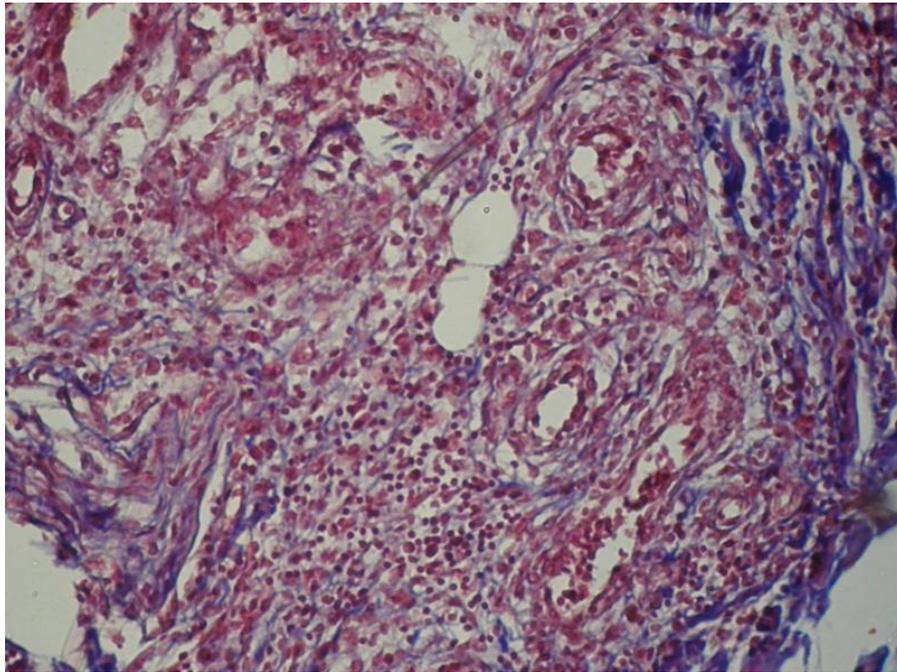


Рис. 5.16. 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за методом Н. З. Слінченко. Об. 20^x. Ок. 10^x.

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 фіброblastів переважно мали інтенсивне позитивне забарвлення на віментин (рис. 5.17). Ендотелій кровоносних судин також інтенсивно забарвлювався на віментин. Відмітним є те, що розподіл вказаних типів клітин був більш рівномірним, ніж у контрольній групі.

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 (рис. 5.18) і в середньому значно більш вираженою, ніж в групі контролю.

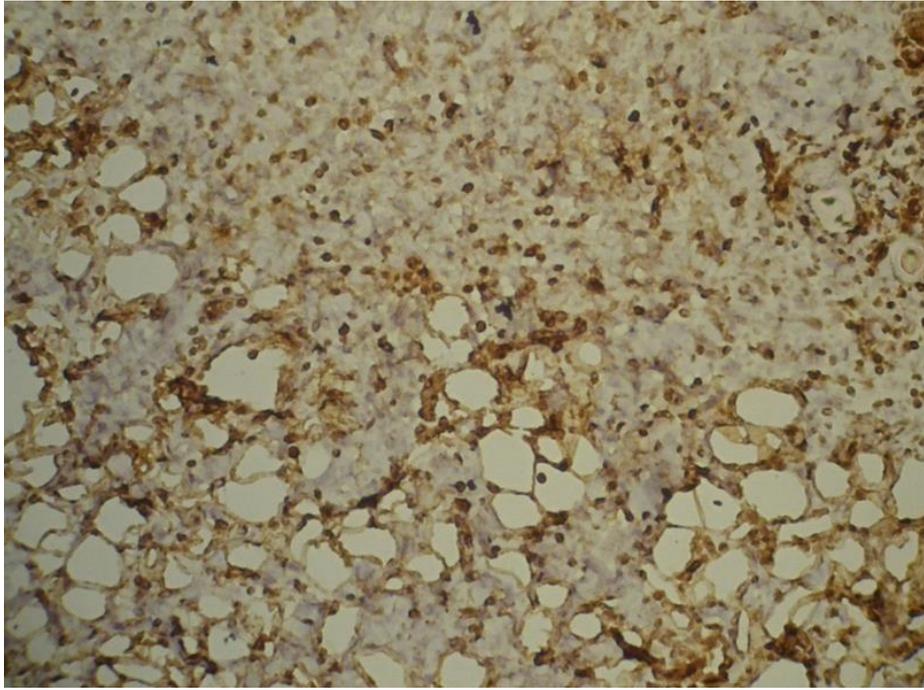


Рис. 5.17. 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. В полі зору круглясті клітин типу лімфоїдних із слабким забарвленням різної інтенсивності на віментин та веретеноподібні об'єкти типу фіброblastів з сильним забарвленням на віментин. Також видно просвіти кровоносних судин (вказані стрілками). Імуногістохімічне визначення віментину. Об. 20^x. Ок.10^x.

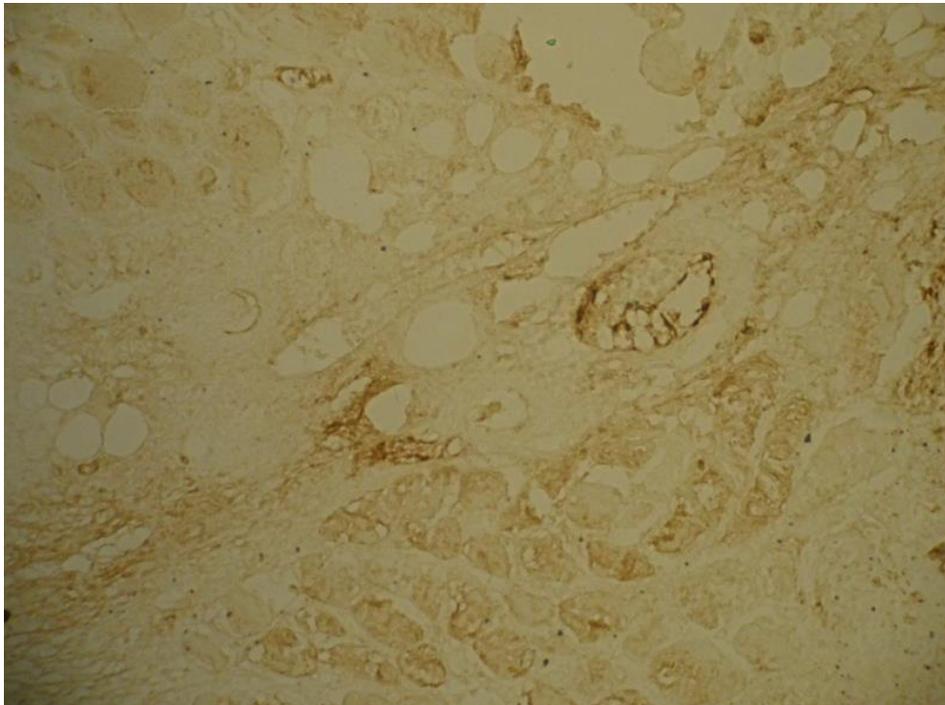


Рис. 5.18. 14-та доба клінічного дослідження (основна група). Центральні відділи виразки. Кровоносні судини вказані стрілками. Імуногістохімічне визначення фактору Віллебранда. Об. 20^x. Ок.10^x.

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 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 в них та ендотеліоцитів з повноцінною продукцією фактору Віллебранда в них. Також, варте уваги й краще розсмоктування мас фібриноїдного некрозу в основній групі спостереження у порівнянні з контрольною групою пацієнтів, що також неодмінно має сприяти більш швидкому і повноцінному загоєнню виразки.

Завдяки впливу на різні ланки патогенезу розвитку виразкового дефекту, використання трансплантації клітин кордової крові у комплексному лікуванні пацієнтів з трофічними виразками венозного генезу, призводить до активації власних регенеративних резервів організму, що у свою чергу прискорює процес загоєння.

Основні положення розділу 5 опубліковані в роботах автора: [19], [22], [24], [28], [51], [104], [105].

РОЗДІЛ 6

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 68649 «Спосіб визначення швидкості загоєння ран» [36]. Поставлена задача вирішується в спосіб визначення швидкості загоєння рани, шляхом математичного розрахунку, що включає визначення певного інтервалу часу, згідно з винаходом, визначають величину об'єму рани в даний момент і величину об'єму рани через визначений інтервал часу і за формулою розраховують індекс загоєння рани:

$$\text{Індекс (\%)} = \frac{(V - V_1)}{V \times T} \times 100 \%,$$

де V – величина об'єму рани в даний момент; V_1 – величина об'єму рани через визначений часовий інтервал (T), T – число днів між першим і наступним вимірами. Визначення зміни об'єму рани є більш точним методом визначення швидкості загоєння ран, що дозволяє краще оцінювати динаміку ранового процесу. Для зручності розрахунків вважають, що глибокі рани (глибина більш 0,5 см) мають форму півсфери або напівеліпсоїду і їхній об'єм розраховують за формулами:

$$\text{об'єм півсфери } V = \left(\frac{2}{3}\right)\pi r^3,$$

де r – радіус кулі.

$$\text{Об'єм напівеліпсоїду } V = \left(\frac{2}{3}\right)\pi abc,$$

де a і b – півосі еліпса, c – висота (глибина рани).

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 (рис. 6.1).



Рис. 6.1. Макрофотографія. Динаміка загоєння трофічної виразки у пацієнта групи дослідження після застосування клітинної суспензії кордової крові: 5-а доба.

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 6.2).

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 (рис 6.2).



Рис. 6.2. Макрофотографія. Динаміка загоєння тропічної виразки у пацієнта групи дослідження після застосування клітинної суспензії кордової крові: 14-а доба.

Далі процес загоєння, в основному, відбувався за рахунок крайової епітелізації, аж до повного загоєння виразок (рис. 6.3, 6.4.).

Також слід зазначити значне зменшення больового синдрому у пацієнтів після трансплантації. Вираженість больового синдрому в обох групах була 5,3–5,5 бали.

В основній групі вже на 5 добу після запропонованого лікування відзначаємо зниження інтенсивності болю на 2,4 бали, на 10 добу – на 4,3 бали, а на 14 добу – на 5,1 бали порівняно з контрольною групою, де зменшення інтенсивності больового синдрому на 5 добу бачимо лише на 0,6 бали, на 10 добу – на 1,5 бали, на 14 добу – на 2,3 бали відповідно ($p < 0,05$)

(рис. 6.5), що супроводжується значно меншою потребою у знеболюючих препаратах використаних в період стаціонарного лікування.



Рис. 6.3. Макрофотографія. Динаміка загоєння трофічної виразки у пацієнта групи дослідження після застосування клітинної суспензії кордової крові: 28-а доба.



Рис. 6.4. Макрофотографія. Динаміка загоєння трофічної виразки у пацієнта групи дослідження після застосування клітинної суспензії кордової крові: 41-а доба.

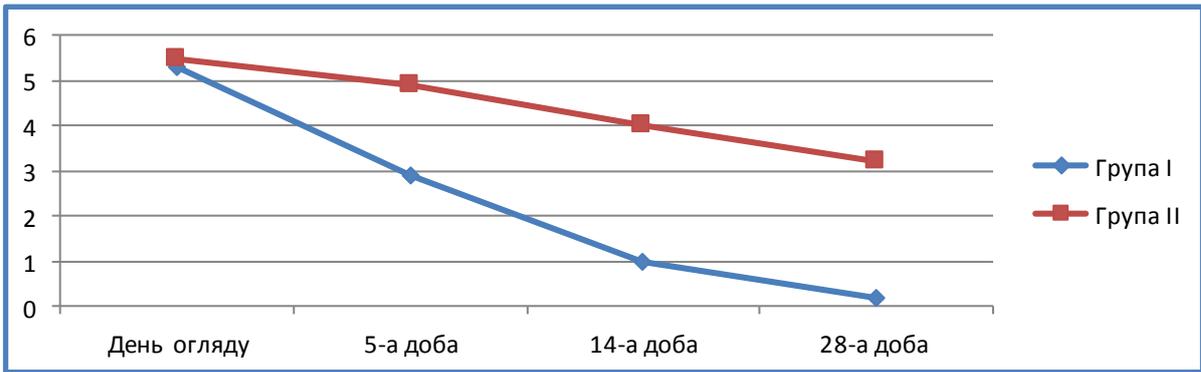


Рис. 6.5. Динаміка зміни індексу больового синдрому під час лікування за даними ВАШ, бали.

Індекс швидкості загоєння виразкового дефекту у пацієнтів груп I та II різнився 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 (рис. 6.6)

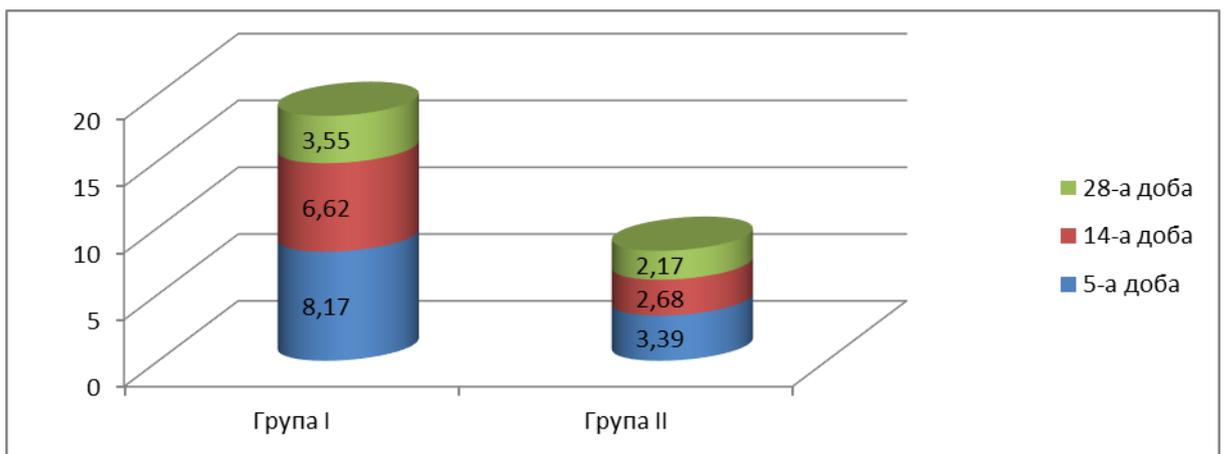


Рис. 6.6. Індекс швидкості загоєння виразкового дефекту у пацієнтів з трофічними виразками нижніх кінцівок на тлі базисної терапії та з застосуванням клітин кордової крові, %.

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.

Отже, дані планіметричного дослідження вказують на позитивний вплив трансплантації клітин кордової крові на процеси регенерації тканин та швидкість загоєння виразкового дефекту у пацієнтів, де стандартна терапія є мало або неефективною.

Основні положення розділу 6 опубліковані в роботах автора: [22].

РОЗДІЛ 7

ЯКІСТЬ ЖИТТЯ ХВОРИХ З ХРОНІЧНИМИ ТРОФІЧНИМИ ВИРАЗКАМИ ВЕНОЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

7.1. Оцінка показників якості життя хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології

Наявність у пацієнта хронічної трофічної виразки, яка виникла внаслідок венозної гіпертензії, значно знижує якість життя людини через постійну потребу в перев'язках, хронічний біль та естетичний вигляд ранової поверхні. Пацієнт, зазвичай, прив'язаний до одного місця проживання та однакового режиму, уникає подорожей до моря, відвідування водойм, басейнів, зайняття спортом. В літературі зустрічається фраза «хворі більше служать ногам, ніж ноги їм».

Нині оцінка якості життя посідає важливе місце в медичних дослідженнях, зокрема, широкого застосування набули як загальні, так і специфічні опитувальники [29]. Серед найбільш визнаних щодо хронічної венозної недостатності – опитувальник CIVIQ 2 [29, 94, 96, 99, 100, 101].

Тому, наступним етапом нашої роботи було оцінити показники ЯЖ у хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології.

Проведено анкетування 32 пацієнтів з трофічними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються. Всі хворі отримували стаціонарне лікування в умовах відділення хірургії судин ОКУ «Чернівецька обласна клінічна лікарня» у період 2015–2019 роки. Причиною венозної недостатності даних пацієнтів був діагноз: посттромбофлебітична хвороба нижніх кінцівок, С6 за СЕАР. У контрольну групу ввійшли 15 пацієнтів репрезентативних за віком та статтю та без ознак хронічної венозної недостатності.

Для оцінювання якості життя пацієнтів із хронічними трофічними виразками обрано шкалу CIVIQ-20 (CIVIQ-20 – Chronic Venous Insufficiency Questionnaire) [29, 94, 96, 99, 100, 101].

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.

Пацієнт повинен був обрати та підкреслити одну відповідь на запитання у вигляді кількості балів від 1 до 5, що відображають рівень обмеження його фізичної, психологічної, соціальної активності та інтенсивність болю.

Отже, аналіз отриманих результатів показав, що в основній групі показник якості життя дорівнював $76,9 \pm 6,36$ бали, у контрольній групі отриманий результат – $31,4 \pm 2,16$ бали (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

**Характеристика якості життя в основній і контрольній
групах на момент залучення в дослідження**

Показник	Контрольна група, n=15	Основна група, n=32
ВБ, бали	$4,5 \pm 0,52$	$15,28 \pm 1,78^*$
ФС, бали	$7,47 \pm 1,06$	$14,91 \pm 1,67^*$
ПС, бали	$13,93 \pm 1,62$	$33,66 \pm 4,01^*$
СС, бали	$5,45 \pm 0,64$	$13,06 \pm 0,51^*$
ЗБ, бали	$31,4 \pm 2,16$	$76,9 \pm 6,36^*$

Примітки: ВБ – виразність болю, ФС – фізична складова, ПС – психологічна складова, СС – соціальна складова, ЗБ – загальний бал, * – вірогідність різниць показників із групою контролю ($p < 0,05$).

Отже, наявність хронічної венозної недостатності, погіршує якість життя пацієнтів майже у 2,4 рази. Найбільше проблем в осіб основної групи пов'язано із підніманням сходінками. 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. 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 ХВН значно погіршує соціальну активність хворих, а саме лімітує подорожування транспортом та відвідування різних вечірок, фуршетів тощо.

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.

7.2. Оцінка показників якості життя хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології під впливом лікування

Для клінічного етапу, відібрано 32 пацієнта з трофічними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються. Всі хворі отримували стаціонарне лікування в умовах відділення хірургії судин ОКУ «Чернівецька обласна клінічна лікарня» у період з 2015–2019 роки. Причиною венозної

недостатності даних пацієнтів був діагноз: посттромбофлебітична хвороба нижніх кінцівок, С6 за СЕАР.

Для проведення оцінки якості життя пацієнта анкетування проводили до трансплантації СК КК, через 1 та 6 місяців після трансплантації (табл. 7. 2.).

Отримані результати опитування хворих в динаміці лікування показали, що через місяць виразність болю у пацієнтів дослідної групи зменшилася на 25 % (рис. 7.1.), в той час як у групі контролю на 11,5 % ($p < 0,05$).

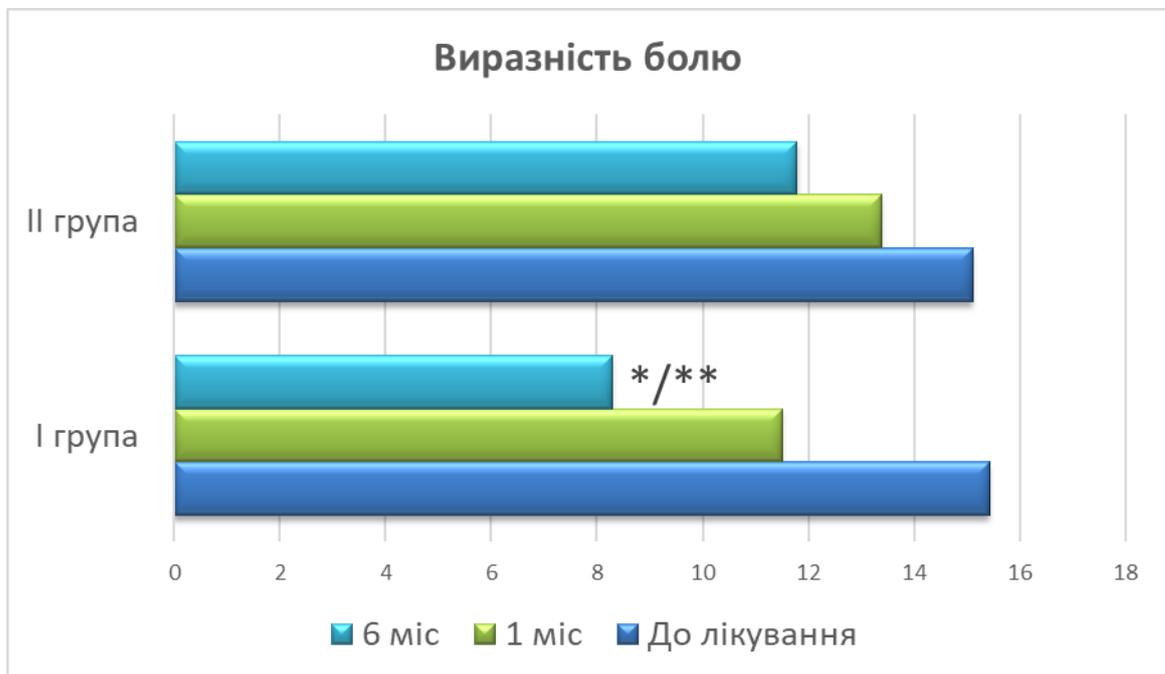


Рис. 7.1. Динаміка показників виразності болю в динаміці лікування (* – вірогідність різниць показників в динаміці лікування ($p < 0,05$); ** – вірогідність різниць з показниками II групи ($p < 0,05$)).

Аналіз показників через місяць показав, що аналогічний показник зменшився ще на 27,9 % ($p < 0,05$) та 11,9 % відповідно.

Запропонований спосіб лікування із застосування трансплантації стовбурових клітин кордової крові зумовив покращання фізичної складової ЯЖ хворих (рис. 7.2).

Таблиця 7.2.

**Характеристика якості життя в основній і контрольній
групах в динаміці лікування**

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

Примітки: ВБ – виразність болю, ФС – фізична складова, ПС – психологічна складова, СС – соціальна складова, ЗБ – загальний бал; * – вірогідність різниць показників в динаміці лікування ($p < 0,05$); ** – вірогідність різниць з показниками II групи ($p < 0,05$).

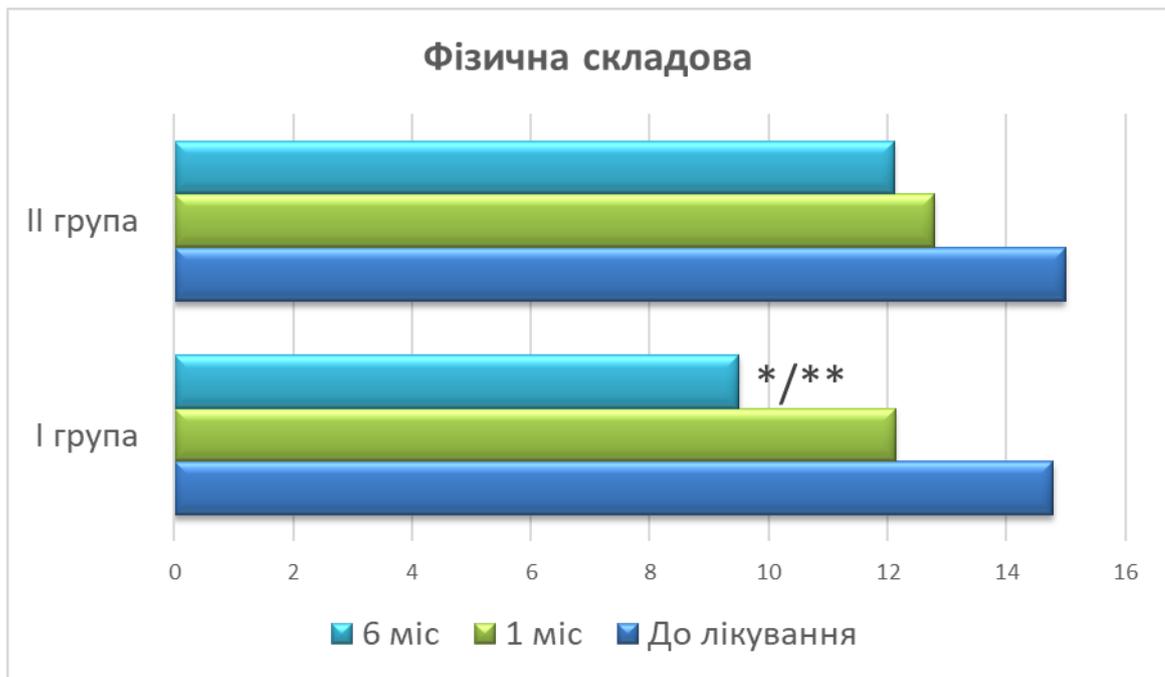


Рис. 7.2. Динаміка показників фізичної складової ЯЖ в динаміці лікування (* – вірогідність різниць показників в динаміці лікування ($p < 0,05$); ** – вірогідність різниць з показниками II групи ($p < 0,05$)).

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 ЯЖ (рис. 7.3.) 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 (рис. 7.4), що через місяць методика трансплантації СК КК 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. Якщо пацієнти дослідної групи вказували, що на значне полегшення у виконанні

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

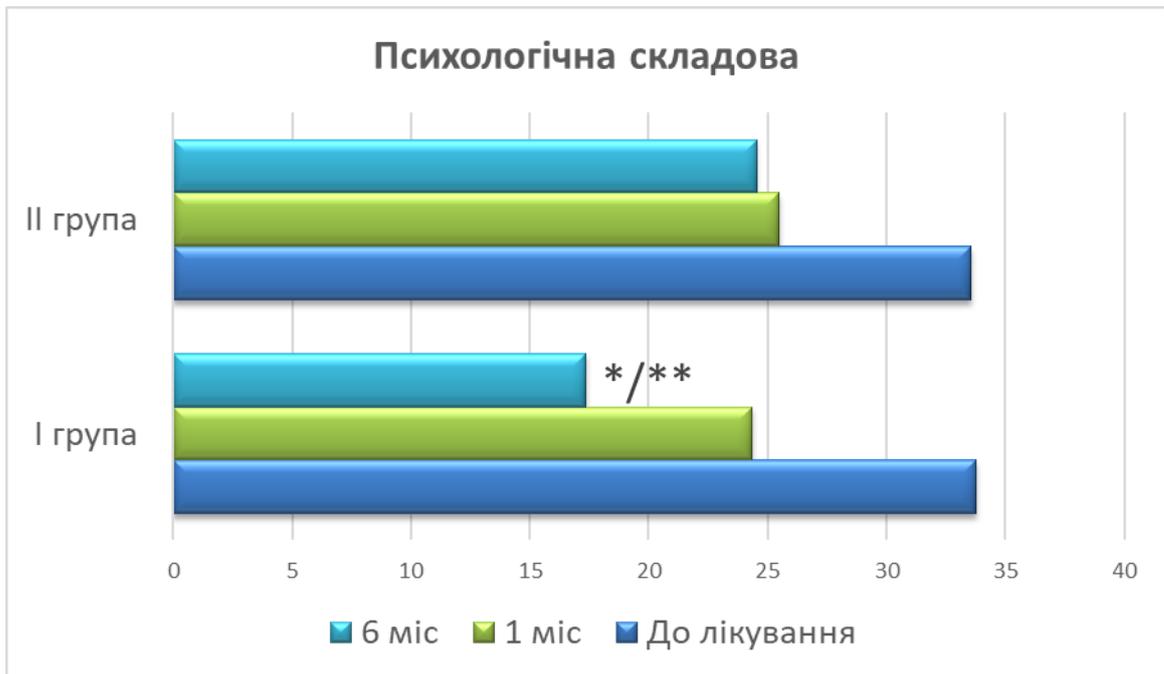


Рис. 7.3. Динаміка показників фізичної складової ЯЖ в динаміці лікування (* – вірогідність різниць показників в динаміці лікування ($p < 0,05$); ** – вірогідність різниць з показниками II групи ($p < 0,05$)).

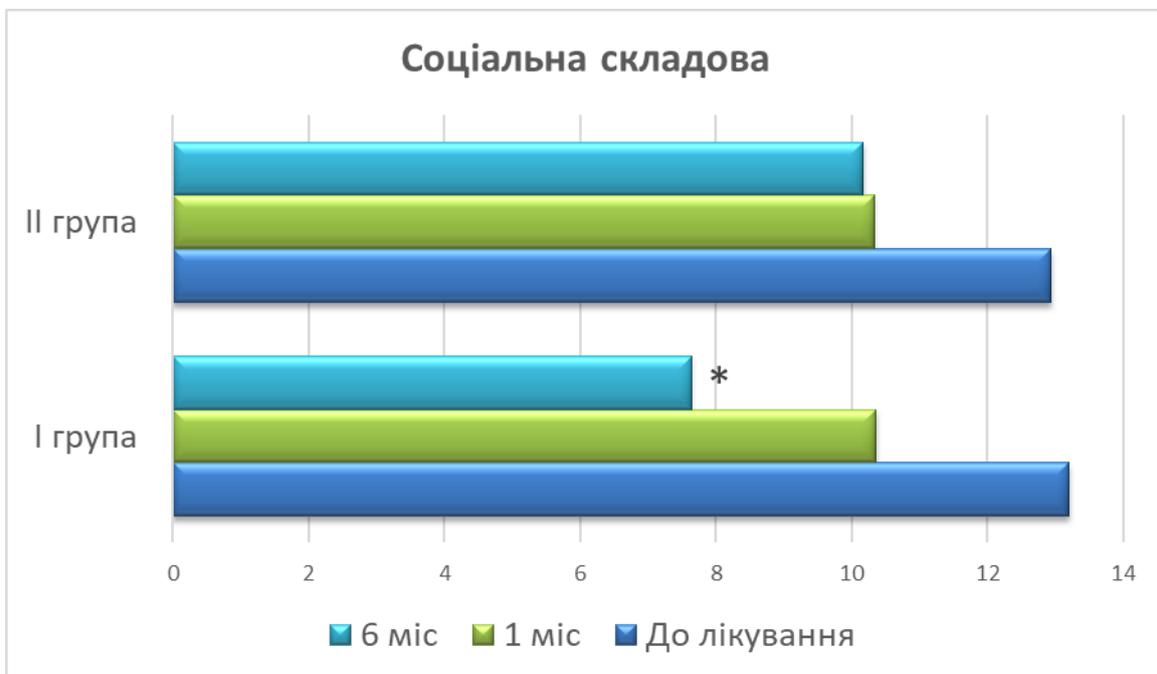


Рис. 7.4. Динаміка показників соціальної складової ЯЖ в динаміці лікування (* – вірогідність різниць показників в динаміці лікування ($p < 0,05$)).

Порівняльний аналіз загальної оцінки ЯЖ 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.

Оцінка віддалених наслідків лікування у шестимісячній термін показала, що вищевказаний показник покращився на 44,6 % у дослідній та на 24,9 % у контрольній групі (рис. 7.5). Крім того, 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.

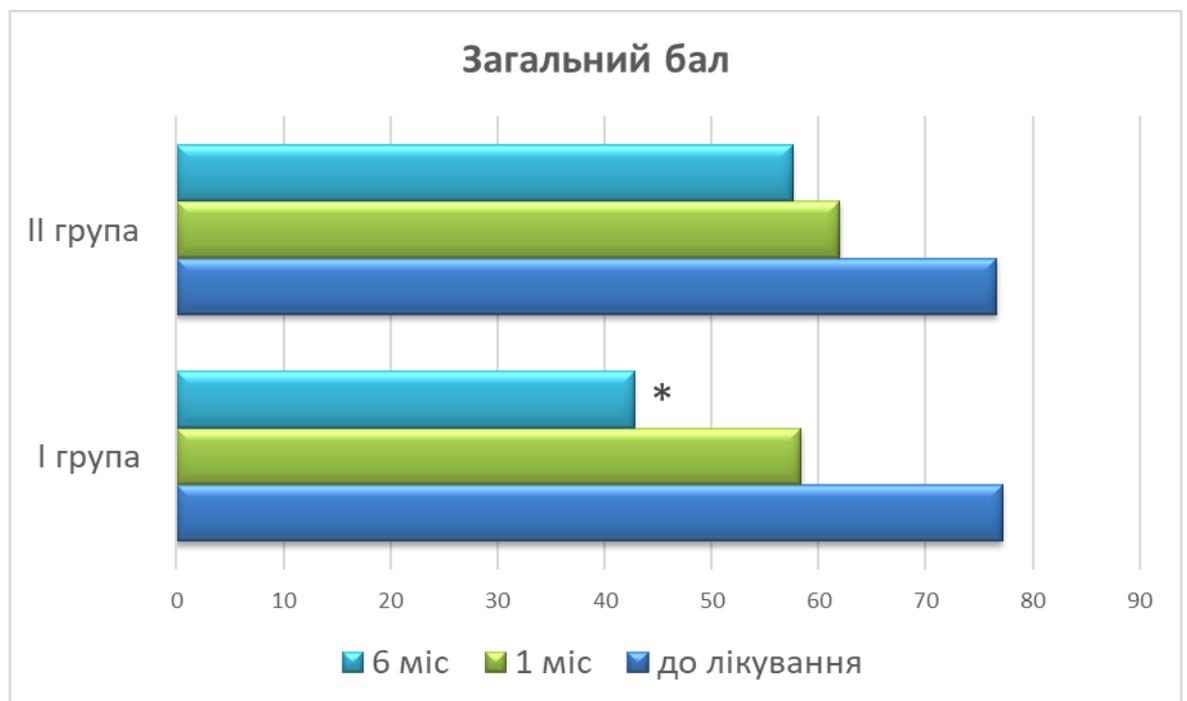


Рис. 7.5. Динаміка показнику ЯЖ в динаміці лікування (* – вірогідність різниць показників в динаміці лікування ($p < 0,05$)).

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 ЯЖ, зокрема з

максимальним досягненням результату у зменшенні виразності больового синдрому та соціальній складовій.

Таким чином, трансплантація клітин кордової крові сприяє загоєнню трофічних виразок нижніх кінцівок за рахунок зменшення ексудації ранової поверхні, стимуляції росту грануляційної тканини, крайової епітелізації, що призводить до значного зменшення больового синдрому, покращення якості життя пацієнтів згідно з результатами опитувальника CIVIQ-20, який є специфічним до моніторингу динаміки клінічних, фізичних, психологічних та соціальних аспектів якості життя хворих з трофічними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються.

Основні положення розділу 7 опубліковані в роботах автора: [106].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Одним з найбільш тяжких ускладнень ХВН є трофічні виразки (ТВ), які розвиваються у 1,0 % дорослого населення і у 2,0 % осіб працездатного віку індустріально розвинених країн. ТВ венозної етіології створюють величезну медичну та соціально-економічну проблему. Їхнє загоєння відбувається тільки у 50,0 % хворих і може тривати до 4-го місяця лікування, а рецидив ТВ упродовж першого року виникає у 30,0 % випадків. Для хворих, що погано переносять компресійну терапію, цей показник через 2 роки зростає до 78,0 %. У 0,3 % випадків виразки довго не гояться і багаторазово рецидивують, незважаючи на найсучасніше комплексне лікування [4, 76, 82].

Таким чином, захворювання вен нижніх кінцівок становить актуальну медичну та соціальну проблему [92, 122]. Переважна більшість хворих знаходиться у працездатному віці – 30–65 років, важкі форми захворювання реєструються у 27 % обстежених, у 12,9 % діагностовані відкриті, а у 6,99 % – закриті трофічні виразки [112].

Відомо, що в основі розвитку трофічних порушень у разі хронічної венозної недостатності лежить венозна гіпертензія, яка ініціює каскад патологічних реакцій на молекулярному, клітинному та тканинному рівнях. Гістопатологи, хірурги та фармацевти працюють над питаннями прогнозування розвитку ранового процесу та новими методами загоєння хронічних ран [98, 115, 116, 126, 130].

Це змусило нас з особливою ретельністю та підвищеною відповідальністю планувати обсяг та спосіб ведення таких хворих.

Останніми роками увагу науковців все більше привертають технології, що пов'язані з використанням клітинних трансплантацій при різних патологічних станах. Тому після розроблення моделі трофічної виразки кінцівки, що поєднувалась з венозною гіпертензією, проведено гістологічні та імуногістохімічні дослідження процесів, що відбувалися в ділянці трофічної виразки на тлі венозної гіпертензії в експерименті, визначено

критерії стимуляції репаративних процесів після трансплантації клітин кордової крові в зону ураження та лікування хворих з венозними трофічними виразками із застосуванням трансплантації клітин кордової крові.

Для досягнення поставленої мети використовували такі методи дослідження: загально-клінічні, антропометричні, лабораторні, інструментальні, гістологічні, імуно-гістохімічні, статистичні.

Експериментальні дослідження проведені на білих щурах масою 200-240 г. Тварини розподілені на дві групи. Першій – на третю добу після формування трофічної виразки в м'язову тканину під виразку вводилася клітинна суспензія з наступними параметрами: вміст ядровмісних клітин – $0,11 \times 10^9$ до $3,7 \times 10^9$, кількість мононуклеарів – 15–60 %, КУО-ГМ – $(50 \pm 10) \times 10^3$ /мл, вміст гемопоетичних клітин, що несуть на своїй поверхні маркери CD34+ CD45+ та CD117+ CD45+, дорівнював відповідно $(0,85 \pm 0,20)$ % та $(1,52 \pm 0,39)$ %. Життєздатність клітин – 80 ± 10 %. Друга група тварин – контрольна, якій суспензію клітин кордової крові не вводили.

Забір матеріалу для дослідження проводили на 3, 5, 10, 14, 21, 25-ту добу після введення клітин кордової крові та проводилося гістологічне дослідження отриманих біоптатів, які забарвлені за методом Слінченка та імуногістохімічного методу для виявлення віментину (з антитілами до віментину) та фактору Віллебранда (з антитілами до фактору Віллебранда).

Результати експерименту показали, що процеси відновлення цілісності та загоєння виразкового дефекту мали місце в експериментальній моделі трофічної виразки, проте їх вираженість та активність різнилася у тварин дослідної та контрольної групи, а саме експериментально сформовані виразкові дефекти в контрольній групі тварин значно зменшились в об'ємі, деякі загоїлися повністю. У дослідній групі тварин виразкові дефекти загоїлись у 100 % випадків.

При порівнянні щурів першої та другої груп можна відзначити, що в останніх ступінь зрілості рубцевої тканини був нижчим, що проявлялося 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 $38 \pm 2,4$ %). Віментин-позитивні клітини переважно мали фібробластне диференціювання.

Для клінічного етапу було відібрано 32 пацієнта з трофічними виразками венозної етіології, що тривало не загоюються. Всі хворі отримували стаціонарне лікування в умовах відділення хірургії судин ОКУ «Чернівецька обласна клінічна лікарня» у період 2015–2019 роки. Причиною венозної недостатності даних пацієнтів був діагноз: посттромбофлебітична хвороба нижніх кінцівок, С6 за СЕАР.

Переважає більшість пацієнтів обох груп страждала на трофічну виразку тільки на одній кінцівці, проте у 5 хворих ураження виявляли на обох нижніх кінцівках. Виявлено, що локалізація ранових дефектів шкіри у більшості хворих обох груп була по медіальній поверхні нижньої третини гомілки і зустрічалась у 21 пацієнта (70 %), а у 6-и (20 %) латеральній та передній поверхнях обох гомілок. У 5-и (10 %) пацієнтів були множинні ураження, тобто одночасно було декілька відкритих виразок різної локалізації на обох гомілках. Згідно з отриманим лікуванням пацієнти були розподілені на дві групи: дослідження (І група) та контролю (ІІ група). Групу дослідження склали 14 пацієнтів, яким на тлі базисної терапії під епідуральною анестезією пункційно під виразку вводилась клітинна суспензія з наступними параметрами: вміст ядровмісних клітин – $0,11 \times 10^9$ до $3,7 \times 10^9$, кількість мононуклеарів – 15-60 %, КУО-ГМ – $(50 \pm 10) \times 10^3$ /мл, вміст гемопоетичних клітин, що несуть на своїй поверхні маркери CD34+ CD45+ та CD117+ CD45+, дорівнював відповідно $(0,85 \pm 0,20)$ % та $(1,52 \pm 0,39)$ %. Життєздатність клітин – 80 ± 10 %. Групу контролю склали 18 пацієнтів, які отримували стандартну консервативну терапію.

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. 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. 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, а далі процес загоєння, в основному, відбувався за рахунок крайової епітелізації, аж до повного загоєння виразок. У пацієнтів контрольної групи загоєння відбувається набагато повільніше з формуванням грубої нееластичної рубцевої тканини та збереженням «мінус тканини».

На 14-добу клінічного дослідження в дні виразки в основній групі спостерігаються морфологічні ознаки кращого дозрівання грануляційної тканини, що видно як за більш рівномірними 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 в них та ендотеліоцитів з більш повноцінною продукцією фактору Віллебранда. Також варто уваги й більш повне розсмоктування мас фібриноїдного некрозу в основній групі спостереження у порівнянні з контрольною групою пацієнтів, що також неодмінно має сприяти швидкому та повноцінному загоєнню виразки.

Індекс швидкості загоєння виразкового дефекту у пацієнтів груп I та II різнився упродовж 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 зазначити, 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 знижувалась до 28-ї доби.

Для оцінювання якості життя пацієнтів із хронічними трофічними виразками обрано шкалу CIVIQ-20 (CIVIQ-20 – Chronic Venous Insufficiency Questionnaire). Аналіз показників ЯЖ показав, що наявність хронічної венозної недостатності погіршує якість життя пацієнтів майже у 2,4 рази. А запропонований спосіб ведення хворих сприяв покращанню показника ЯЖ на 44,6 % у дослідній та на 24,9 % у контрольній групі, що є достовірною міжгруповою різницею.

Отже, проведені дослідження з діагностики та лікування дозволили нам створити практичні рекомендації щодо лікування хворих із трофічними виразками венозної етіології, які тривало не загоюються, що дозволить лікарям покращити результати ведення хворих, а пацієнтам – якість життя.

Нами розроблено схему впливу трансплантації СК КК на різні ланки патогенезу трофічних венозних виразок (рис. 8.1). Вважаємо, що після трансплантації стовбурових клітин кордової крові у пацієнтів з трофічними венозними виразками відбувається цілий ряд процесів, які впливають на всі ланки патогенезу розвитку виразкового дефекту, що в свою чергу призводить до швидшого загоєння. Доведено, що основною причиною розвитку венозних трофічних ран є венозна гіпертензія, яка призводить до збільшення тиску у венозному кінці капіляру мікроциркуляторного русла шкіри, внаслідок чого порушується дифузія в капілярах та збільшується проникнення стінок судини. СК КК позитивно впливає на мікроциркуляцію за рахунок нормалізації функції ендотелію. При прогресуванні процесу відбувається поступовий вихід білка, в тому числі і фібрину, в інтерстиційний простір, де накопичується навколо капілярів у вигляді стискаючої «манжетки». На цьому етапі СК КК створюють певний бар'єр для виходу формених елементів крові з русла. Внаслідок прогресуючої венозної гіпертензії, ендотелій виділяє

інтерлейкіни та адгезивні молекули ICAM – I та VCAM – I, які в свою чергу, активують лейкоцити та тромбоцити і призводять до мікротромбозів капілярів, що спричиняє локальну гіпоксію тканин з пошкодженням клітин шкіри та підшкірно-жирової клітковини кисневими радикалами з розвитком хронічного запалення та вогнищевого некрозу й наступним утворенням виразкового дефекту.



Рис. 8.1. Патогенетичний механізм впливу клітин кордової крові на тканини трофічної виразки венозної етіології, що тривало не загоюється.

Трансплантація суспензії клітин кордової крові стимулює активні ангіогенні процеси в цій ділянці та значно зменшує прояви гіпоксії, а також, потрапляючи в цю зону, стовбурові клітини набувають мезенхімального диференціювання, що збільшує популяції стромальних клітин і формування колагенових волокон та сприяє швидкому загоєнню виразкового дефекту.

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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абдулкадыров КМ, Романенко НА, Старков НН. Сравнение трех вариантов получения плацентарной крови. Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: Материалы научно-практической конференции. Санкт-Петербург. 2000. С. 25.
2. Абдулкадыров КМ, Романенко НА, Старков НН. Получение и клиническое применение периферических гемопоэтических стволовых клеток из пуповинной крови. Вопросы онкологии. 2000;46:513–520.
3. Антоненко ВТ, Королев ЮН, Кузьменко ВА. Влияние взвеси фетальных эритроцитов на течение геморрагического шока. Физиологический журнал. 1980. Т. XXVI, 5. С. 639–645.
4. Бабинкіна ІБ, Новікова ГА, Бабинкіна ГП Хірургічне лікування хронічної венозної недостатності нижніх кінцівок. Харківська хірургічна школа. 2020. № 3(102). С. 68–73.
5. Возианов АФ, Бутенко АК, Зак КП. Цитокины. Биологические и противоопухоливые свойства. Киев: Наук. думка, 1998. 245 с.
6. Возіанов АФ, Зак КП, Зубко .І. Перспективи застосування цитокінів при лікуванні раку нирок з метастазами: Тези доп. ІХ з'їзду онкологів України. Київ, 1995. С. 23–25.
7. Голик РІ, Оліник ЮВ, Лазарук ОВ Використання стовбурових клітин кордової крові при трофічних розладах тканин кінцівок за умов венозної гіпертензії в експерименті. ВІМСО, 8–10 квітня 2015; Чернівці. 2015: 403.
8. Гольцев АН, Калиниченко ТА. Пуповинная кордовая кровь человека как источник гемопоэтических клеток для клинического применения. Часть 2. Иммунологическая характеристика. Проблемы криобиологии. 1998;1:3–24.

9. Грек Л.П. Роль β -ендорфину в патогенезі порушень репродуктивної функції при хронічному сальпінгофориті : Автореф. дис. канд. мед. наук: Харк. держ. мед. ун-т. – Харків.1996: 22.
10. Грищенко ВИ, Гольцев АН. Трансплантація продуктів ембриофетоплацентарного комплексу. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения. Проблемы криобиологии. 2002;1: 54–84.
11. Грищенко ВИ, Прокопюк ОС. Перспективы и возможности использования плацентарной крови. Медицинские вести. 1997;4:26–27.
12. Гудз ІМ, Лавринєць ВЗ, Гудз ОІ, Дмитрів ІВ, Багрій ММ. Роль кросектомії в рецидиві варикозної хвороби. Серце і судини. 2012;4:63–68.
13. Гудз ІМ Особливості лікування змішаних виразок нижніх кінцівок. Клінічна флебологія. 2016. Т.9, №1:40–41.
14. Гудз ІМ. Актуальні питання лікування венозних виразок. Клінічна флебологія. 2015;8(1):15–16.
15. Гулевський ОК, Грищенко ВІ, Нікольченко АМ, Моїсєєва НМ. Властивості і перспективи використання кордової крові в клінічній практиці. Український журнал гематології та трансфузіології. 2005;1:5–14.
16. Даценко БМ. Теория и практика местного лечения гнойных ран. Киев: Здоров'я, 1995. 383 с .
17. Домбровський ДБ, Давиденко ІС, Оліник ЮВ, Ільчишин МВ. Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках. Клінічна флебологія;2013;7(1):149–150.
18. Домбровський ДБ, Оліник ЮВ, Давиденко ІС. Морфологічні особливості регенерації трофічної виразки венозного генезу при застосуванні стовбурових клітин кордової крові в експерименті. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2018;22(3):412–416.
19. Домбровський ДБ, Оліник ЮВ, Давиденко ІС. Трансплантація стовбурових клітин кордової крові в комплексному лікуванні пацієнтів з трофічними венозними виразками, що довго не загоюються. Клінічна

флебологія.2019;11(1):34.

20. Домбровський ДБ, Оліник ЮВ, Максим'юк ВВ. Гістологічні особливості процесу регенерації трофічних розладів венозної етіології за умов використання клітинної трансплантації в експерименті. Буковинський медичний вісник. 2015;19(2):66–69.

21. Домбровський ДБ, Оліник ЮВ, Пшиборовська ЮР. Клітинна трансплантація в лікуванні хворих на судинну патологію. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2012;11(3):45–47.

22. Домбровський ДБ, Оліник ЮВ. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками. Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». 2020; 1(61). С. 34–37.

23. Домбровський ДБ, Оліник ЮВ. Клітинна трансплантація при трофічних розладах тканин кінцівок на тлі венозної гіпертензії в експерименті. Клінічна флебологія. 2015;8(1):93–94.

24. Домбровський ДБ, Оліник ЮВ. Спосіб лікування трофічних виразок венозного генезу за допомогою трансплантації клітин кордової крові. Раціональна пропозиція. № 6/21. 26.01.2021 року. Чернівці, БДМУ.

25. Домбровський ДБ, Пшиборовська ЮР, Яковець КІ, Савін ВВ, Оліник ЮВ, Максим'юк ВВ. Характеристика та шляхи використання стовбурових клітин кордової крові. Буковинський медичний вісник. 2014;18(1):151–155.

26. Домбровський ДБ, Савін ВВ, Оліник ЮВ, Пшиборовська ЮР, Максим'юк ВВ. Імуногістохімічна характеристика диференціації клітин кордової крові за різних умов трансплантації в експерименті. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2013;12(4):32–37.

27. Домбровський ДБ, Салютін РВ, Оліник ЮВ, Ільчишин МВ. Гістологічні та імуногістохімічні особливості утворення трофічних виразок венозної етіології в експерименті. Клінічна флебологія;2013;6(1):74–77.

28. Домбровський ДБ, Салютін РВ, Оліник ЮВ. Трансплантація

клітин кордової крові при венозних трофічних розладах тканин кінцівок в експерименті та клініці. Клінічна флебологія. 2016;9(1):70–71.

29. Дужий ІД, Попадинець ВМ, Кравець ОВ, Ніколаєнко АС. Оцінка якості життя хворих із трофічними виразками венозного генезу. Серце і судини. 2018;1:92–94.

30. Егоров ВВ, Иванов АА, Пальцев МА. Стволовые клетки человека. Молекулярная медицина. 2003;2:3–14.

31. Ермоленко ВМ, Николаев АЮ. Эритропоэтин: биологические свойства и применение в клинике. Тер. арх. 1990;62:141–145.

32. Закон України "Про донорство крові та її компонентів" від 23.06.95 р. № 239/95-ВР.

33. Кобза П, Терлецький ІР, та ін. Лікування пацієнтів з трофічними виразками нижніх кінцівок. Клінічна флебологія. 2016;9(1):43–47.

34. Когут ГИ, Перехрестсенко ПМ, Исакова ЛМ, и др Перспектива создания банка криоконсервированной кордовой крови для клинического применения. Врачебное дело. 1998;3:65–68.

35. Кохан РС, Гощинський ВБ, Пятничка ОЗ Застосування сучасних технологій у лікуванні хворих із декомпенсованою формою варикозної хвороби нижніх кінцівок. Український журнал хірургії. 2017. №1 (32). С. 46–50.

36. Кравцов ЄА, Гірка ЕІ, винахідники; патентовласники. Спосіб визначення швидкості загоєння ран. Патент України № 68649. 2014 Сер. 16.

37. Кузник БИ, Морозов ВГ, Хавинсон ВХ. Цитомедины и их роль в регуляции физиологических функций. Успехи совр. биологии. 1995;115: 353–367.

38. Кухарчук АЛ, Радченко ВВ, Сирман ВМ. Эмбриональные плюрипотентные прогениторные клетки, иммунологическая толерантность, аутоиммунные заболевания и старение организма. Трансплантология. 2003;4:225–228.

39. Літвінова НЮ, Салютін РВ, Панченко ЛА. Перспективи використання пуповинної крові для лікування ішемії нижніх кінцівок. Серце і судини. 2013;1(41):85–93.
40. Ляховський ВІ, Безкоровайний ОМ, Сидоренко АВ Особливості лікування та загоювання трофічних виразок нижніх кінцівок змішаного генезу. Клінічна хірургія. 2019; 86(7):36–41.
41. Марри Р, Греннер Д, Мейерс П. Биохимия человека: В 2-х томах, Т.1, пер. с англ.: Москва: Мир. 1993. 430 с.
42. Митькин В.В., Сухих Г.Т. Эндогенные опиоидные пептиды при беременности и родах. Акушерство и гинекология. 1993. 5: 6–10.
43. Мишалов ВГ, Селюк ВМ, Войтович ОИ, Нагалюк ЮВ. Малоинвазивные технологии в лечении хронической венозной недостаточности с трофическими изменениями тканей. Клініч. флебологія. 2008;1(1):101.
44. Морозова РП, Козулина ЕП, Николенко ИА, и др. Плацента – источник биологически активных веществ. Укр. биохим. журнал. 1999;71(4):21–29.
45. Моршакова ЕФ, Павлов АД, Румянцев АГ. Эритропоэз и его регуляция в эмбриональном, фетальном и неонатальном периодах. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 1999;44: 12–16.
46. Мошко ЮА. Криоконсервирование сыворотки кордовой крови, определение ее биологической активности и клинической эффективности в терапии хронических сальпингоофоритов: Дис... канд. мед. наук: ИПК и К НАН У. Харьков., 2003, 161с.
47. Музь М.І. Комплексні методи хірургічного лікування трофічних виразок нижніх кінцівок при хронічній венозній недостатності: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.03 / Музь М.І. 2015. 164 с.
48. Насонов ЕЛ, Виноградов ВА. Опиоидные пептиды как регуляторы системы иммунитета. Бюл. Всесоюз. кардиол. науч. центра АМН России. 1990;10: 3–10.

49. Нікульніков ПІ, Ліксунов ОВ, Ратушнюк АВ, Бічер АГ. Можливості лікування трофічних виразок у хворих із декомпенсованими формами хронічної венозної недостатності нижніх кінцівок із використанням спрею КадефортГМ. Хірургія, Ортопедія, Травматологія, Інтенсивна терапія. 2019. № 1 (35). С. 12–16.

50. Обзор докладов, представленных на Всемирном конгрессе по пуповинной крови и инновационным подходам к лечению серповидноклеточной анемии в Монако 24–27 октября 2013 года. (2014). Клеточная и органная трансплантология, 2 (1), 90–94

51. Оліник ЮВ, Домбровський ДБ, Давиденко ІС. 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.

52. Павлов А.Д. Эритропоэтин: достижения и перспективы. Гематология и трансфузиология. 1997;1:25–29.

53. Пат. 68649 «Спосіб визначення швидкості загоєння ран» формула Попової у модифікації Гірка Е.І., Кравцова Є.А.

54. Пиптюк ОВ, Телемуха СБ, Пиптюк ВО. Шляхи покращання лікування хворих із хронічними трофічними виразками нижніх кінцівок різного генезу Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». 2012;2(44):86–91.

55. Поляченко ЮВ, Домбровський ДБ, Салютін РВ. Укр.мед.альманах. 2010;3(13):150–154.

56. Поляченко ЮВ, Ніконенко ОС, Салютін РВ, Комаров МП, Паляниця СС, Борис РМ. Клітинна трансплантація: нормативно-правові аспекти, перспективи та напрямки клінічного використання. Клітинна та органна трансплантологія. 2013;1(2):28–34.

57. Русин ВІ, Корсак ВВ, Діккер ГМ, Митровка БА. Лікування венозних трофічних виразок. Науковий вісник Ужгородського університету, серія "Медицина". 2011;2(40):222–225.

58. Салютін РВ, Буслович ЕВ, Сірман ВМ, Борис РН, Комарова ЛС, Паляниця СС. Український медичний часопис. 2013;4(96):27–29.
59. Смолянинов, А. Б. Клеточные и генные технологии в кардиологии: учебное пособие. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2009. 175 с.
60. Черняк В.А., Карпенко К.К Характеристика, механізми дії і місце веноактивних препаратів у лікуванні хронічних захворювань вен нижніх кінцівок за даними рекомендацій 2018 року. Хірургія України. 2019. № 1: 7–22.
61. Чернеховская Н. Е., Шишло В. К., Чомаева А. А., Шевхужев З. А. Основы взаимодействия NO–терапии и лимфотропной антибиотикотерапии при лечении трофических язв. Хирургическая практика. 2013. № 1. С. 9–13.
62. Чернуха Л.М.. Хронические заболевания вен – проблема, требующая решения. Здоров'я України. 2011;259.(6):18–19.
63. Чернуха ЛМ, Щукін СП. Тромботичні ускладнення важких форм варикозної хвороби: хірургічне лікування та профілактика тромбоемболії легеневої артерії. Науковий вісник Ужгородського університету, серія “Медицина”. 2012;3(45):128–132.
64. Ширшев СВ. Белки фетоплацентарного комплекса в регуляции иммунных реакций. Успехи современной биологии. 1993, 113: 230–237.
65. Яблоков ЕГ, Кириенко АИ, Богачев ВЮ. Хроническая венозная недостаточность. М., 1999. 145 с.
66. Aliakbar S, Brown PR. Measurement of human erythrocyte CAI and CAII in adult, newborn, and fetal blood. Clin Biochem. 1996;29(2):157–64.
67. Antin JH, Ferrara JL. Cytokine dysregulation and acute graft-versus-host disease. Blood. 1992;80(12):2964–8.
68. Antin JH. Graft-versus-leukemia: no longer an epiphenomenon. Blood. 1993;82(8):2273–7.
69. Barretto OC, Nonoyama K, Deutsch AD, Ramos JL. Physiological red cell, 2,3-diphosphoglycerate increase by the sixth hour after birth. J Perinat Med. 1995;23(5):365–9.

70. Bauer C. Erythropoietin--from gene structure to therapeutic applications. *J Perinat Med.* 1995;23(1-2):77–81.
71. Beratis NG, Varvarigou A, Makri M, Vagenakis AG. Prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor-I in newborn children of smoking mothers. *Clin Endocrinol (Oxf)*;40(2):179–85.
72. Brem H, Balledux J, Sukkarie T, Carson P, Falanga V. Healing of Venous Ulcers of Long Duration with a Bilayered Living Skin Substitute: Results from a General Surgery and Dermatology Department. *Dermatologic Surgery.* 2001;27: 915–919.
73. Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg.* 2006 Jun;117(7 Suppl):1e-S–32e-S.
74. Broxmeyer HE, Hangoc G, Cooper S, Ribeiro RC, Graves V, Yoder M, Wagner J, Vadhan-Raj S, Benninger L, Rubinstein P, et al. Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 May 1;89(9):4109–13.
75. Broxmeyer HE. Cord blood as an alternative source for stem and progenitor cell transplantation. *Curr Opin Pediatr.* 1995;7(1):47–55.
76. Chernukha LM, Guch A, Kondratyuk VA, et al. Two levels of varicose disease. Muth or realit. *Baltic Society phlebology. 4th Scientific Meeting, Jurmala, Latvia, May 19-20.* 2017:38–9
77. Eberhardt RT, Raffetto JD. Chronic venous insufficiency. *Circulation.* 2005;111(18):2398–409.
78. Eguchi K, Sawai T, Mizutani Y, Yonezawa M. Comparative study of erythrocyte deformability in maternal and cord blood. *Am J Perinatol.* 1995 Jan;12(1):39–43.
79. Eguchi K, Sawai T, Mizutani Y. Erythrocyte deformability of nonpregnant, pregnant, and fetal blood. *J Perinat Med.* 1995;23(4):301–6.

80. Fatunde OJ, Kaplan SS, Lochner JB, PENCHANSKY L. Characterization of lymphocyte subpopulations in human cord blood using the immunogold staining technique. *Eur J Haematol.* 1987 J;39(1):18–22.
81. Flanagan M. *Wound healing and skin Integrity: Principles and Practice.* Wiley. 2013, 312 p.
82. Frykberg RG, Banks J. Challenges in the treatment of chronic wounds. *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2015;4(9):560–82.
83. Goldberger A, Middleton KA, Oliver JA, Paddock C, Yan HC, DeLisser HM, Albelda SM, Newman PJ. Biosynthesis and processing of the cell adhesion molecule PECAM-1 includes production of a soluble form. *J Biol Chem.* 1994 Jun 24;269(25):17183–91.
84. Gottrup F, Apelqvist J, Bjarnsholt T, Cooper R, Moore Z, Peters EJ, Probst S. Antimicrobials and Non-Healing Wounds. Evidence, controversies and suggestions-key messages. *J Wound Care.* 2014;23(10):477–8, 480, 482.
85. Gruenwald P. The amount of fetal blood remaining in the placenta at birth. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1969 Jan;130(1):326–9.
86. Harris DT, Schumacher MJ, Locascio J, Besencon FJ, Olson GB, DeLuca D, Shenker L, Bard J, Boyse EA. Phenotypic and functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Nov 1;89(21):10006–10.
87. Harris DT, Schumacher MJ, Rychlik S, Booth A, Acevedo A, Rubinstein P, Bard J, Boyse EA. Collection, separation and cryopreservation of umbilical cord blood for use in transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1994;13(2):135–43.
88. Harrell CR, Jovicic N, Djonov V, Volarevic V. Therapeutic Use of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes: From Basic Science to Clinics. *Pharmaceutics.* 2020; 12(5): 474.
89. Hermanns HJ, Gallenkämper G, Kanya S, et al. Die Shave Therapie im Konzept der operativen Behandlung des therapieresistenten Ulcus cruris venosum. *Phlebologie.* 2005;34:209–215.

90. Hermanns HJ, Waldhausen P. Shave therapy for venous ulcers- a review and current results. *Phlebology*.2009;16(2):253–258.
91. In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, Noort WA, Claas FH, Willemze R, Fibbe WE, Kanhai HH. Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood*. 2003;102(4):1548–9.
92. Joseph D Raffetto, Daniela Ligi, Rosanna Maniscalco, Raouf A Khalil, Ferdinando Mannello Why Venous Leg Ulcers Have Difficulty Healing: Overview on Pathophysiology, Clinical Consequences, and Treatment. *J Clin Med*. 2020 Dec 24;10(1):29.
93. Katorkin S, Sizonenko Y, Nasyrov M. Photody-namic therapy in the treatment of trophic leg ulcers. *Vasomed*. 2015;27(2):82–84.5.
94. Kaplan RM, Criqui MH, Denenberg JO, Bergan J, Fronck A. Quality of life in patients with chronic venous disease: San Diego population study. *J Vasc Surg*. 2003 May;37(5):1047–53.
95. Kisker CT, Robillard JE, Clarke WR. Development of blood coagulation--a fetal lamb model. *Pediatr Res*. 1981;15(7):1045–50.
96. Keser İ, Özdemir K, Erer D, Onurlu İ, Bezgin S. Differences in pain, fatigue, and quality of life in patients with chronic venous insufficiency based on physical activity level. *Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg*. 2020 Jan 23;28(1):76–83.
97. Kogler G., Sensken S., Airey J.A. et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med*. 2004;200(2):123–35.
98. Kulesza T., Mitrut T., Jojczuk M., Jahołkowski L., Nodalski A., Prystupa A. Treatment of lower limb trophic ulcers using hyperbaric oxygenation. *J Pre Clin Clin Res*. 2014;8(1):44–47.
99. Launois R, Mansilha A, Jantet G. International psychometric validation of the Chronic Venous Disease quality of life Questionnaire (CIVIQ-20). *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2010;40(6):783–9.

100. Launois R, Reboul-Marty J, Henry B. Construction and validation Keser İ, Özdemir K, Erer D, Onurlu İ, Bezgin S. Differences in pain, fatigue, and quality of life in patients with chronic venous insufficiency based on physical activity level. *Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg.* 2020;28(1):76–83.

101. Launois R, Reboul-Marty J, Henry B. Construction and validation of a quality of life questionnaire in chronic lower limb venous insufficiency (CIVIQ). *Qual Life Res.* 1996;5(6):539–54.

102. Namiki A, Brogi E, Kearney M, Kim EA, Wu T, Couffinhal T, Varticovski L, Isner JM. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *J Biol Chem.* 1995;270(52):31189–95.

103. Niwa H, Masui S, Chambers I, Smith AG, Miyazaki J. Phenotypic complementation establishes requirements for specific POU domain and generic transactivation function of Oct-3/4 in embryonic stem cells. *Mol Cell Biol.* 2002;22(5):1526–36.

104. 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; 4–7th of February 2016; Sarajevo, Bosnia and Herzegovina 2016, p. 56.*

105. Olinik Yu, Dombrovskiy D, Olinik O. Experimental and clinical studies of the cord blood cell transplantation in venous trophic tissues disorders of the extremities. *Proceedings of 39th International Medical Scientific Congress; 7–10th of May 2016; Ohrid, Macedonia. Ohrid, Macedonia; 2016, p. 92.*

106. Olinik Yu. V. Quality of life of patients with chronic trophic ulcers of venous etiology. *Journal of Education, Health and Sport.* 2020;10(12):270–277.

107. Pasteur I, Tron'ko M. Klinichni doslidzhennya z vykorystannya stovburovykh klityn u likuvanni patsiyentiv iz syndromom diabetychnoi stopy zhidno z bazoyu danykh saytu ClinicalTrials.gov [Clinical trials on the use of stem cells in the treatment of patients with diabetic foot syndrome according to the database of the site ClinicalTrials.gov]. *Endokrinologiya.* 2020; 25(3): 251–266.

108. Pikus PO, Rymar SYu, Shuvalova NS, Buchek PV. Morfolohichni osoblyvosti vidnovlennya pechinky shchuriv na modeli tsyrozu, indukovanoho CCL4, pislya transplantatsiyi mezenkhimalnykh stovburovykh klityn pupovyny lyudyny [Morphological features of rat liver regeneration in a model of CCL4-induced cirrhosis after human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation]. *Fakty eksperymentalnoi evolyutsiyi orhanizmiv*. 2020; 26: 252–258.

109. Pittard WB 3rd, Geddes KM, Hulsey TC, Hollis BW. Osteocalcin, skeletal alkaline phosphatase, and bone mineral content in very low birth weight infants: a longitudinal assessment. *Pediatr Res*. 1992;31(2):181–5.

110. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, Phinney DG, Hare JM, Caplan AI. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *NPJ Regenerative medicine*. 2019; 4(1): 1–15.

111. Portmann-Lanz CB, Schoeberlein A, Huber A, Sager R, Malek A, Holzgreve W, Surbek DV. Placental mesenchymal stem cells as potential autologous graft for pre- and perinatal neuroregeneration. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(3):664–73.

112. Rabe E, Pannier F. Clinical, aetiological, anatomical and pathological classification (CEAP): gold standard and limits. *Phlebology*. 2012;27(1_suppl):114–8

113. Rampling MW, Whittingstall P, Martin G, Bignall S, Rivers RP, Lissauer TJ, Bailey PC. A comparison of the rheologic properties of neonatal and adult blood. *Pediatr Res*. 1989;25(5):457–60.

114. Raffeto J.D. Dermal pathology, cellular biology, and inflammation in chronic venous disease. *Thromb Res* 2009; 123: 66–71

115. Raffetto, J., D. Ligi, Rosanna Maniscalco, R. Khalil and F. Mannello. “Why Venous Leg Ulcers Have Difficulty Healing: Overview on Pathophysiology, Clinical Consequences, and Treatment.” *Journal of Clinical Medicine* 10 (2020): n. pag.

116. Santler, B. and Goerge, T. (2017), Chronic venous insufficiency – a

review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 15: 538–556.

117. Sarabahi S. Recent advances in topical wound care. *Indian J Plast Surg*. 2012;45(2):379–387.

118. Schintler MV. Negative pressure therapy: theory and practice. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012 Feb;28 Suppl 1:72–7.

119. Schneider DM, von Tempelhoff GF, Herrle B, Heilmann L. Maternal and cord blood hemostasis at delivery. *J Perinat Med*. 1997;25(1):55–61.

120. Schneider H, Malek A. Lack of permeability of the human placenta for erythropoietin. *J Perinat Med*. 1995;23(1-2):71–6.

121. Segal BM, Dwyer BK, Shevach EM. An interleukin (IL)-10/IL-12 immunoregulatory circuit controls susceptibility to autoimmune disease. *J Exp Med*. 1998;187(4):537–46.

122. Shpadaruk V, Woo P. Non-healing leg ulcer. *BMJ*. 2016;;i465.

123. Shulha MV, Tsarivska YaM Biotekhnolohichni aspekty vykorystannya mezenkhimalnykh, embrionalnykh, stromalnykh ta indukovanykh plyurypotentnykh stovburovykh klityn [Biotechnological aspects of using mesenchymal, embryonic, stromal and induced pluripotent stem cells]. *Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences*. 2018; VI(17/157): 34–37.

124. Southcott MJ, Tanner MJ, Anstee DJ. The expression of human blood group antigens during erythropoiesis in a cell culture system. *Blood*. 1999;93(12):4425–35.

125. Stoffels I, Dissemond J, Klode J. Modern wound surgery-surgical treatment options. *Phlebologie*. 2013;42(4):199–204.

126. Targon R., Babin A. Topical treatment of trophic ulcers using the hydroactive wound dressing. *Arto Medica*. 2015. № 3(56). P. 186.

127. Valencia IC, Falabella A, Kirsner RS, Eaglstein WH. Chronic venous insufficiency and venous leg ulceration. *J Am Acad Dermatol*. 2001;44(3):401–21; quiz 422–4.

128. Weiss ML, Mitchell KE, Hix JE, Medicetty S, El-Zarkouny SZ, Grieger D, Troyer DL. Transplantation of porcine umbilical cord matrix cells into the rat brain. *Exp Neurol*. 2003;182(2):288–99.

129. Yamada T, Fan J, Shimokama T, Tokunaga O, Watanabe T. Induction of fatty streak-like lesions in vitro using a culture model system simulating arterial intima. *Am J Pathol*. 1992;141(6):1435–44.

130. Yung-Wei Chi, Joseph D Raffetto Venous leg ulceration pathophysiology and evidence based treatment. *Vasc Med*.. 2015 Apr;20(2):168–81.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ**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. Рациональна 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).*

ВПРОВАДЖЕННЯ

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор комунального
некомерційного підприємства
"Олександрівська клінічна лікарня
м. Києва" Київської міської
державної адміністрації
Антоненко Л.П.

“26” _____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Найменування пропозиції для впровадження:** Використання трансплантації стовбурових клітин кордової крові в комплексному лікуванні пацієнтів з трофічними виразками венозного генезу.
- Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович.
- Джерело інформації:** Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками /Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1(61). – С.34-37
- Впроваджено в** комунальне некомерційне підприємство "Олександрівська клінічна лікарня м. Києва" виконавчого органу Київської міської ради (Київської міської державної адміністрації).
- Термін впровадження:** з березня 2020р. по січень 2021р.
- Загальна кількість спостережень** 16.
- Ефективність впровадження порівняно з критеріями, викладеними в джерелі інформації**

ПОКАЗНИКИ	За даними розробників	За даними організації, яка впроваджує
Покращення ефективності прогнозування	Індекс швидкості загоєння у 2,4 рази вище	Індекс швидкості загоєння у 2,1 рази вище

- Зауваження, пропозиції:** Впровадити трансплантацію стовбурових клітин кордової крові в комплексне лікування пацієнтів з тривало існуючими виразковими дефектами венозного генезу, що не піддаються стандартній терапії.

“25” _____ 2021 року

Відповідальний за впровадження
(посада, підпис)

Л.П. Антоненко

Курдюков О.В.

“ЗАТВЕРДЖУЮ” 
 В.о. директора ОКНП
 "Чернівецька обласна клінічна
 лікарня"
 Цинтар С.А.
 “26” січня 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

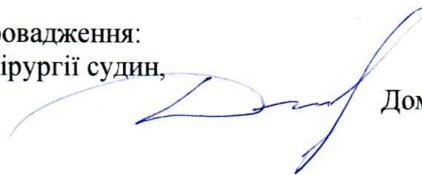
1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Використання трансплантації стовбурових клітин кордової крові в комплексному лікуванні пацієнтів з трофічними виразками венозного генезу.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович.
3. **Джерело інформації:** Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками /Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1 (61). – С.
4. **Впроваджено в** обласне комунальне неприбуткове підприємство «Чернівецька обласна клінічна лікарня».
5. **Термін впровадження:** з січня 2020р. по січень 2021р.
6. **Загальна кількість спостережень** 8.
7. **Ефективність впровадження порівняно з критеріями, викладеними в джерелі інформації**

ПОКАЗНИКИ	За даними розробників	За даними організації, яка впроваджує
Покращення ефективності прогнозування	Індекс швидкості загоєння у 2,4 рази вище	Індекс швидкості загоєння у 2,3 рази вище

8. **Зауваження, пропозиції:** Впровадити трансплантацію стовбурових клітин кордової крові в комплексне лікування пацієнтів з тривало існуючими виразковими дефектами, що не піддаються стандартній терапії.

“26” січня 2021 року

Відповідальний за впровадження:
 завідувач відділення хірургії судин,
 д.мед.н., проф.



Домбровський Д.Б.



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор комунального
некомерційного підприємства
"Вінницька обласна клінічна
лікарня ім. М.І. Пирогова
Вінницької обласної ради"
Жупанов О. Б.

“20” січня 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Використання трансплантації стовбурових клітин кордової крові в комплексному лікуванні пацієнтів з трофічними виразками венозного генезу.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович.
3. **Джерело інформації:** Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками /Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1(61). – С.
4. **Впроваджено в** комунальне некомерційне підприємство «Вінницька обласна клінічна лікарня ім. М.І. Пирогова Вінницької обласної ради»
5. **Термін впровадження:** з березня 2020 р. по січень 2021 р.
6. **Загальна кількість спостережень** 8.
7. **Ефективність впровадження порівняно з критеріями, викладеними в джерелі інформації**

ПОКАЗНИКИ	За даними розробників	За даними організації, яка впроваджує
Покращення ефективності прогнозування	Індекс швидкості загоєння у 2,4 рази вище	Індекс швидкості загоєння у 2,0 рази вище

8. **Зауваження, пропозиції:** Впровадити трансплантацію стовбурових клітин кордової крові в комплекс лікування пацієнтів з тривало існуючими виразковими дефектами, що не піддаються стандартній терапії.

“20” січня 2021 року

Відповідальний за впровадження:
Завідувач відділенням хірургії судин

Скупий О.М.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора з наукової роботи ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім.О.О. Шалімова НАМН України» Костишев М.В.

« 25 » 01 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** “Трансплантація клітин кордової крові в комплексному лікуванні хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології”.

2. **Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович.

3. **Джерела інформації:**

1) Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках / Д.Б. Домбровський, І.С. Давиденко, Ю.В. Оліник, М.В. Ільчишин // Клінічна флебологія. — 2014. — Т. 7, № 1. — С. 149-150.

2) Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками / Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1(61). – С. 34-37

4. **Де впроваджено:** в практичну діяльність відділу хірургії магістральних судин ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України».

5. **Термін впровадження:** з вересня по грудень 2020 р.

6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелах інформації про впровадження (п.3):** комплексне лікування пацієнтів з венозними трофічними виразками, що тривало не загоюються.

7. **Зауваження, пропозиції:** оформити авторське право на дану пропозицію.

Завідувач відділу хірургії
магістральних судин ДУ
«Національний інститут хірургії та
трансплантології ім. О.О. Шалімова
НАМН України», д.мед.н., професор

Нікульніков П.І.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної та
навчальної роботи
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця
Доктор медичних наук,
професор, полковник медичної служби
Власенко О.М.

« 29 » _____ 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** “Трансплантація клітин кордової крові в комплексному лікуванні хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології”
2. **Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович
3. **Джерела інформації:**
 - 1) Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках / Д.Б. Домбровський, І.С. Давиденко, Ю.В. Оліник, М.В. Ільчишин // Клінічна флебологія. — 2014. — Т. 7, № 1. — С. 149-150.
 - 2) Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками /Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1(61). – С.34-37
4. **Де впроваджено** в навчальний процес кафедри хірургії з курсом невідкладної та судинної хірургії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
5. **Термін впровадження:** з вересня по грудень 2020 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелах інформації про впровадження (п.3):** комплексне лікування пацієнтів з венозними трофічними виразками, що тривало не загоюються.
7. **Зауваження, пропозиції:** оформити авторське право на дану пропозицію

Відповідальний за впровадження,
Кафедра хірургії з курсом невідкладної
та судинної хірургії
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця, д.мед.н., професор

 Сусак Я.М.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф. Гумінський Ю.Й.

«*Степа*» 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** “Трансплантація клітин кордової крові в комплексному лікуванні хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології”
2. **Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович
3. **Джерела інформації:**
 - 1) Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках / Д.Б. Домбровський, І.С. Давиденко, Ю.В. Оліник, М.В. Ільчишин // Клінічна флебологія. — 2014. — Т. 7, № 1. — С. 149-150.
 - 2) Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками /Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1(61). – С. 34-37
4. **Де впроваджено** в навчальний процес кафедри ендоскопічної та серцево-судинної хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Термін впровадження:** з вересня по грудень 2020 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелах інформації про впровадження (п.3):** комплексне лікування пацієнтів з венозними трофічними виразками, що тривало не загоюються.
7. **Зауваження, пропозиції:** оформити авторське право на дану пропозицію

Відповідальний за впровадження,
завідувачка кафедри ендоскопічної та
серцево-судинної хірургії Вінницького
національного медичного університету
ім. М.І. Пирогова, д.мед.н., професор

Петрушенко В.В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Декан медичного факультету
ДВНЗ «Ужгородського національного
університету»

д.мед.н., професор Болдіжар О.О.
» _____ 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** “Трансплантація клітин кордової крові в комплексному лікуванні хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології”
2. **Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович
3. **Джерела інформації:**
 - 1) Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках / Д.Б. Домбровський, І.С. Давиденко, Ю.В. Оліник, М.В. Ільчишин // Клінічна флебологія. — 2014. — Т. 7, № 1. — С. 149-150.
 - 2) Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками /Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1(61). – С.
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес медичного факультету Ужгородського національного університету.
5. **Термін впровадження:** з вересня по грудень 2020 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелах інформації про впровадження (п.3):** комплексне лікування пацієнтів з венозними трофічними виразками, що тривало не загоюються.
7. **Зауваження, пропозиції:** оформити авторське право на дану пропозицію

Відповідальна за впровадження:
зав. кафедрою хірургічних
хвороб медичного факультету,
д.мед.н., професор

Болдіжар П.О.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного
медичного університету імені
І.Горбачевського д.мед.н., професор
Шуцьгай А.Г.



2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** “Трансплантація клітин кордової крові в комплексному лікуванні хворих з хронічними трофічними виразками венозної етіології”
2. **Установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я, по-батькові автора:** Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії №1, 58000, м. Чернівці, пл. Театральна, 2. Домбровський Дмитро Борисович, Оліник Юрій Васильович
3. **Джерела інформації:**
 - 1) Доклінічний досвід використання стовбурових клітин кордової крові при венозних трофічних виразках / Д.Б. Домбровський, І.С. Давиденко, Ю.В. Оліник, М.В. Ільчишин // Клінічна флебологія. — 2014. — Т. 7, № 1. — С. 149-150.
 - 2) Домбровський Д.Б. Використання клітинних технологій у комплексному лікуванні пацієнтів із трофічними венозними виразками /Д.Б. Домбровський, Ю.В. Оліник // Науковий вісник Ужгородського університету, серія медицина – 2020. – випуск 1(61). – С. 34-37
4. **Де впроваджено** в навчальний процес кафедри хірургії №2 Тернопільського національного медичного університету імені І.Горбачевського.
5. **Термін впровадження:** з вересня по грудень 2020 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелах інформації про впровадження (п.3):** комплексне лікування пацієнтів з венозними трофічними виразками, що тривало не загоюються.
7. **Зауваження, пропозиції:** оформити авторське право на дану пропозицію

Відповідальний за впровадження,
завідувач кафедри хірургії №2
д.мед.н., професор

Венгер І.К.

