

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**ГОЛЬЦЕВ Кирило Анатолійович**

УДК: 616-001.4-039.22-08-089:615.38

ДИСЕРТАЦІЯ

**КОМПЛЕКСНЕ ЛІКУВАННЯ РАН, ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ,  
З ВИКОРИСТАННЯМ КОМПОНЕНТІВ КОРДОВОЇ КРОВІ**

*зі спеціальності 222 «Медицина», спеціалізація «Хірургія»*

*22 – Охорона здоров'я*

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_ К.А. Гольцев

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Криворучко Ігор Андрійович, доктор медичних наук,  
професор, завідувач кафедри хірургії № 2

м. Харків – 2024

## АНОТАЦІЯ

**Гольцев К.А. Комплексне лікування ран, що тривало не загоюються, з використанням компонентів кордової крові.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина, спеціалізація «Хірургія» (22 – Охорона здоров'я). – Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2024.

Дисертацію присвячено завданням вивчення результатів хірургічного лікування ран, що тривало не загоюються (РТНЗ), з використанням компонентів кордової крові.

У роботі на підставі комплексного клінічного дослідження і аналізу причинно-наслідкових чинників різних видів РТНЗ доповнено наукові дані про особливості клінічної картини, конкретизовано зміни гомеостазу, які характерні для перебігу даного захворювання, а також доведено, що метаболічні властивості вивчених з'єднань узгоджуються з виявленими дистрофічними і деструктивними порушеннями в організмі пацієнта з РТНЗ при розвитку метаболічних та імунних порушень, підтверджених при проведенні досліджень на організменному та клітинному рівнях. Враховуючи розповсюдженість РТНЗ, тяжкий перебіг захворювання з формуванням стійких осередків атрофії та ущільнення шкіри, а також недостатню ефективність існуючої терапії та невирішеність питань діагностики прогресування захворювань, розв'язання цього завдання є актуальним для сучасної практичної хірургії. Наведено теоретичне обґрунтування необхідності та нове вирішення наукового завдання, що полягає в підвищенні ефективності діагностики та лікування хворих із РТНЗ шляхом розробки нових сучасних комплексних методів терапії з урахуванням клініко-патогенетичної ролі метаболічних та імунних порушень.

Доведено, що використання розробленої раціональної програми та її широке впровадження до повсякденної хірургічної практики при лікуванні хворих із РТНЗ дозволяє поліпшити результати лікування цієї категорії пацієнтів за рахунок зменшення операційної травми, а також мінімізувати або виключити можливість розвитку ускладнень, в тому числі вторинної інфекції шляхом зниження ризику вторинного інфікування ранової порожнини.

Запропоновано низку варіантів сучасних етіопатогенетичних напрямків діагностики та лікування хворих, що страждають на зазначену патологію, які включають сучасну терапію з використанням запропонованої оригінальної схеми комплексного лікування хворих із РТНЗ.

Як бачимо, продовжують дискутуватися тактика, методи та способи лікування РТНЗ та їх ускладнень, що призводить до формування протилежних поглядів на дану тематику. Питання вибору методу комплексного хірургічного лікування, вдосконалення прогностичних критеріїв перебігу РТНЗ та алгоритму лікувально-діагностичної програми залишаються актуальними.

**Мета дослідження:** підвищити ефективність комплексного хірургічного лікування ран, що тривало не загоюються, шляхом лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел» сумісно з VAC-терапією.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити клініко-епідеміологічні аспекти і клінічні прояви РТНЗ на сучасному етапі у клініці.

2. Провести комплексну діагностику з обґрунтуванням застосування сучасних методів дослідження для подальшого вивчення показників імунного та біохімічного гомеостазу та його вплив на регрес формування метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

3. Розробити спосіб клініко-лабораторної оцінки ефективності комплексного хірургічного лікування для визначення ступеня регресу розвитку синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

4. Розробити нову сучасну схему комплексного хірургічного лікування гнійних ран, що тривало не загоюються, із застосуванням кріоконсервованої

плазми кордової крові людини «Гемокорд-Кріоцел», опрацювати модифікований у клініці метод ВАК-терапії з впровадженням у хворих із важкими великими поширеними гнійними РТНЗ, визначити вразливість перебігу ранового процесу до -і після лікування за даними бактеріологічного та планіметричного досліджень шляхом обмірювання розміру та обчислювання площі ранової поверхні.

5. На підставі оцінки стану метаболічних порушень і динаміки показників імунного статусу хворих у період прогресуючої стадії захворювання розробити критерії прогнозу клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

6. Провести порівняльну оцінку ефективності результатів застосування різних схем терапії з використанням традиційних лікувальних підходів на основі традиційної базової терапії та запропонованої нової сучасної схеми комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ.

**Об'єкт дослідження:** рани, що тривало не загоюються.

**Предмет дослідження:** 107 хворих із різними типами ран, що тривало не загоюються, яким проводились оперативні втручання. Пацієнти знаходилися на лікуванні у Комунальному некомерційному підприємстві Харківської обласної ради «Обласна клінічна лікарня». Усі пацієнти були розподілені на три групи: основна (36 пацієнтів), I група порівняння (38 пацієнтів) та II група порівняння (33 пацієнта). Пацієнти досліджуваних груп знаходились на лікуванні у клініці із 2020 по 2024 рр.

**Методи дослідження:** клінічні, лабораторні (біохімічні, імунологічні), інструментальні, бактеріологічні, статистичні.

Проведене дослідження демонструє, що поліпшення загального стану хворих завжди є головною метою проведеного комплексного лікування РТНЗ. Моніторинг основних скарг з урахуванням клінічної картини РТНЗ дозволив оцінити ефективність комплексної терапії і в певній мірі допомогти у виборі та проведенні необхідної адекватної корекції захворювання. Включення до

складу базисної терапії РТНЗ хірургічного втручання, антибіотикотерапії, місцевого використання 0,02% розчину Декасана, лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел», а також додатково сеанси нового сучасного фізичного методу VAC-терапії, сприяло більш значному зростанню порівняно зі стандартною терапією рівня самопочуття, активності, зменшенню запального процесу осередків у прогресуючій стадії. Комплексне лікування призводить до нормальних значень циркулюючих імунних комплексів малого діаметра, імуноглобуліну А, інтерлейкінів 1 і 4, фактора некрозу пухлини  $\alpha$ , ефективно і достовірно знижує рівень інтенсивності почуття стягування шкіри, порушення сну, дратівливість, порог стомлюваності, а також підвищує працездатність.

Результати проведених досліджень свідчать про патогенетичну спрямованість комплексного застосування терапії на підставі розробленої схеми патогенетичного лікування, включно із застосуванням нового фізичного методу VAC-терапії та лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел» на тлі традиційної терапії у пацієнтів із РТНЗ, що супроводжується швидким і вираженим регресом основних клінічних критеріїв захворювання та полягає в основі високого терапевтичного ефекту нового сучасного розробленого способу лікування.

На підставі проведеного дослідження встановлено, що використання VAC-терапії у пацієнтів із РТНЗ, сприяє прискореному очищенню рани, її знезараженню, усуває запалення, зменшує її розмір та мінімізує ризик збільшення вартості лікування внаслідок приєднання вторинної інфекції.

Застосування методу локального негативного тиску в комплексному лікуванні пацієнтів з РТНЗ сприяє скороченню тривалості фаз перебігу ранового процесу, ранній деконтамінації тканин і швидкому скороченню розмірів ранових дефектів.

Отримані результати свідчать про високу ефективність та безпечність застосування методу локального негативного тиску при РТНЗ. VAC-терапія може вважатися найкращим засобом лікування хронічних ран, але потрібні

подальші дослідження з більшою кількістю пацієнтів, перш ніж вакуумну пов'язку можна буде додати до широкого спектру методів комплексного хірургічного лікування РТНЗ.

В дисертаційній роботі зазначено, що висока ефективність розробленого способу хірургічного лікування з використанням у комплексі із медикаментозною терапією (антибактеріальна та спазмолітична терапія, детоксична та вітамінотерапія), безпека застосування, можливість безпечного виконання та доступність вказаних засобів обґрунтовують доцільність їх використання при хірургічному лікуванні хворих на РТНЗ і дозволяють рекомендувати їх для широкого впровадження у практику охорони здоров'я.

Результати клінічного дослідження і розробок істотно доповнюють відомості про патогенез, а також арсенал діагностики та комплексного лікування РТНЗ із застосуванням сучасних технологій і послужить методологічною основою для підвищення ефективності профілактики РТНЗ у рамках диспансеризації населення.

Таким чином ефективність роботи:

- Медична: у результаті проведеного дослідження доведена ефективність використання нової схеми комплексного лікування різних типів РТНЗ із урахуванням профілактики вторинної інфекції з використанням нових сучасних технологій

- Соціальна: проведене дослідження дозволяє вдосконалити комплексне хірургічне лікування цієї категорії хворих, зменшує кількість післяопераційних ускладнень, що призводить до підвищення якості життя пацієнтів.

- Економічна: економічна ефективність дослідження полягає у скороченні фінансових витрат на лікувальні заходи у хворих із РТНЗ шляхом підвищення ефективності лікування, а також у зменшенні кількості ліжко-днів перебування на стаціонарному лікуванні.

Можлива область застосування: хірургічні відділення, у котрих на лікуванні знаходяться пацієнти із різними типами РТНЗ.

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри хірургії № 2 Харківського національного медичного університету «Удосконалення та розробка методів діагностики і хірургічного лікування захворювань і травм органів черевної порожнини та грудної клітки, судин верхніх та нижніх кінцівок з використанням мініінвазивних методик у пацієнтів на високий ризик розвитку післяопераційних ускладнень», № державної реєстрації 0116U004991.

**Ключові слова:** рани, що тривало не загоюються, компоненти кордової крові, хірургічне лікування, результати лікування, трофічна виразка, запалення, м'які тканини, антибіотикорезистентність, якість життя, консервативне лікування.

## ANNOTATION

***Goltsev K.A. Complex treatment of wounds that have not healed for a long time, using components of cord blood.*** – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 – «Medicine», specialization «Surgery» (22 - Health Care). - Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2024.

The dissertation is devoted to the problem of studying the results of surgical treatment of purulent wounds that do not heal for a long time (WNHLT) using components of cord blood.

In the work, based on a comprehensive clinical study and analysis of causal factors of various types of WNHLT, scientific data on the peculiarities of the clinical picture were supplemented, changes in homeostasis, which are characteristic of the course of this disease, were specified, and it was also proved that the metabolic properties of the studied compounds are consistent with the identified dystrophic ones. and destructive disorders in the body of a patient with WNHLT during the development of metabolic and immune disorders, confirmed by conducting research at the organismal and cellular level. Given the prevalence of WNHLT, the severe course of the disease with the formation of persistent foci of atrophy and thickening of the skin, as well as the insufficient effectiveness of existing therapy and the unsolved issues of diagnosis of disease progression, solving this problem is relevant for modern practical surgery. The theoretical justification of the need and a new solution to the scientific task, which consists in increasing the effectiveness of diagnosis and treatment of patients with WNHLT by developing new modern complex methods of therapy, taking into account the clinical-pathogenetic role of metabolic and immune disorders, are presented.

It has been proven that the use of the developed rational program and its wide implementation into everyday surgical practice in the treatment of patients with

WNHLT allows to improve the results of treatment of this category of patients due to the reduction of surgical trauma, as well as to minimize or eliminate the possibility of developing complications, including secondary infection by reducing the risk secondary infection of the wound cavity.

A number of options for modern etiopathogenetic directions of diagnosis and treatment of patients suffering from the specified pathology are proposed, which include modern therapy using the proposed original scheme of complex treatment of patients with WNHLT.

The state of metabolic disorders in patients with WNHLT during the progressive stage of the disease was assessed, and the dynamics of immune status indicators during treatment were also characterized. The conducted studies revealed in most cases the predominance of the values of the studied indicators in patients with WNHLT before the treatment. An increase in immunological parameters was found (phagocytic index, phagocytic number, phagocytosis completion index, concentration of peptides of average molecular weight, circulating immune complexes, lymphocytotoxicity, antibodies to native DNA, antinuclear antibodies); biochemical indicators (increase in C-reactive protein, concentration of magnesium,  $\alpha$ 2-,  $\beta$ -,  $\gamma$ -fraction,  $\beta$  -lipoproteins, HDL and decrease in concentration of chlorine, albumin,  $\alpha$ 1-globulin fraction, total lipids, cholesterol, triglycerides). It should be especially noted the increase in the level of indicators of the structural and metabolic state of connective tissue (CT) - elastase, glycosaminoglycans, collagenolytic activity of blood plasma (by oxyproline). The conducted studies revealed a number of peculiarities of biochemical indicators and indicate that WNHLT in the advanced stage was accompanied by disorders of the metabolic exchange of connective tissue, which are associated with the activation of proteinases and the accumulation of glycosaminoglycans in the blood serum. The high correlation between the dynamics of elastase activity and the content of glycosaminoglycans in blood serum in WNHLT allows the use of these indicators for differential diagnosis and the choice of complex therapy, as prognostically significant in the dynamics of pathogenetic treatment, which ensures an increase in the efficiency of its

implementation, increases the accuracy of determining the degree of severity of the disease course, the severity of the process and the forecast of the output of WNHLT.

The conducted study demonstrates that improvement of the general condition of patients is always the main goal of the comprehensive WNHLT therapy. Monitoring of the main complaints taking into account the clinical picture of WNHLT made it possible to evaluate the effectiveness of complex therapy and to a certain extent help in the selection and implementation of the necessary adequate correction of the disease. The inclusion of surgical intervention, antibiotic therapy, local use of 0.02% Dekasan solution, treatment with the medical immunobiological drug "Cryocell-Criocord" as part of the basic therapy of WNHLT, as well as additionally sessions of the new physical method of VAC therapy, contributed to a more significant increase compared to standard therapy of the level well-being, activity, reducing the inflammatory process of cells in the progressive stage. Complex treatment leads to normal values of circulating small-diameter immune complexes, immunoglobulin A, interleukins 1 and 4, tumor necrosis factor  $\alpha$ , effectively and reliably reduces the intensity of skin tightening, sleep disturbances, irritability, fatigue threshold, and also increases work capacity.

The results of the conducted research indicate the pathogenetic orientation of the complex application of therapy based on the developed scheme of pathogenetic treatment, including the use of a new physical method of VAC therapy and treatment with the medical immunobiological drug "Cryocell-Criocord" against the background of traditional therapy in patients with WNHLT, which is accompanied by rapid and pronounced regression of the main clinical criteria of the disease and is the basis of the high therapeutic effect of the new, modern, developed method of treatment.

The developed combined method of surgical treatment is a pathogenetically based, highly effective method of therapy and prevention of WNHLT. The pathogenetic effect is determined by a high regenerative potential, which leads to the formation and synthesis of biologically active substances, increased activity of immunocompetent cells, stimulation of reparative processes, restoration of the activity of antioxidant protection enzymes. The safe use and availability of such therapy justify the feasibility of using means that improve the condition of connective tissue in the treatment of patients with

WNHLT and allow recommending them for implementation in health care practice. It should be noted that the implementation of the results of the conducted research into practice made it possible to optimize the results of complex surgical treatment of patients with WNHLT, contributed to the reduction of bed-days and improvement of their quality of life in the future.

The clinic has developed and implemented a method of evaluating the effect of the treatment of patients with WNHLT, which is based on the task of expanding the arsenal of methods for evaluating the effectiveness of treatment of patients with WNHLT by counting the indicators of elastase activity, collagenolytic activity and accumulation of glycosaminoglycans in blood serum. The clinical application of the developed method allows for differential diagnosis, as well as the selection of complex therapy and the improvement of the effectiveness of treatment of patients with WNHLT. The possibility of evaluating the effect of the treatment of patients with WNHLT by determining the parameters of elastase activity, collagenolytic activity and accumulation of glycosaminoglycans in the blood serum has been proven.

An algorithm of therapeutic and diagnostic tactics for patients with WNHLT was developed, which was based on the processes of slowing down the progression of the disease, maximal stabilization of the process, and regression of the clinical picture. The complex of medical measures included the use of drug therapy (antifibrotic, detoxifying, vascular, metabolic, membrane-stabilizing drugs, cytoprotectors, vitamins, antioxidants), which activated breathing and energy production in cells, improved the processes of oxygen utilization by tissues, restored the activity of antioxidant protection enzymes, which is confirmed by the normalization of levels indicators of structural and metabolic disorders in the connective tissue (elastase, collagenolytic activity, glycosaminoglycan content), an increase in the levels of anti-inflammatory cytokines interleukin-4 and interleukin-10 and indicates the activation of mechanisms aimed at extinguishing the pathological process. The content of pro- and anti-inflammatory cytokines in the blood serum of WNHLT patients 1-3 days after hospitalization was studied and their prognostic value for diagnosis and optimization of pathogenetic therapy was substantiated. Complex treatment leads to normal values of circulating small-diameter immune complexes,

immunoglobulin A, interleukins-1 and interleukins-4, tumor necrosis factor  $\alpha$ , effectively and reliably reduces the intensity of skin tightening, sleep disturbances, irritability, fatigue threshold, and also increases work capacity.

The work established the positive effect of treatment of patients with WNHLT with medical immunobiological drug "Cryocell-Cryocord" against the background of basic treatment. It has been established that its pharmacological effects are due to the complex influence of substances that are part of its components. The drug stimulates respiration and energy generation in cells, improves oxygen utilization processes by tissues, restores the activity of antioxidant protection enzymes. The drug activates intracellular protein synthesis, promotes utilization of glucose, fatty acids and resynthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) in neurons through the Roberts shunt.

On the basis of the conducted research, it was established that the use of VAC therapy in patients with WNHLT contributes to accelerated cleaning of the wound, its disinfection, eliminates inflammation, reduces its size and minimizes the risk of increasing the cost of treatment due to the addition of a secondary infection.

Application of the method of local negative pressure in the complex treatment of patients with WNHLT contributes to shortening the duration of the phases of the wound process, early decontamination of tissues and rapid reduction of the size of wound defects.

The obtained results indicate the high efficiency and safety of the application of the method of local negative pressure in WNHLT. VAC therapy may be considered the best treatment for chronic wounds, but further studies with a larger number of patients are needed before vacuum dressing can be added to a wide range of comprehensive surgical treatments for WNHLT.

In the dissertation, it is stated that the high efficiency of the developed method of surgical treatment when used in combination with drug therapy (antibacterial and antispasmodic therapy, detoxification and vitamin therapy), the safety of use, the possibility of safe execution and the availability of the specified means substantiate the feasibility of their use in the surgical treatment of patients with WNHLT and allow recommending them for wide implementation in health care practice.

The results of clinical research and development significantly supplement the information about the pathogenesis, as well as the arsenal of diagnosis and complex treatment of WNHLT with the use of modern technologies and will serve as a methodological basis for increasing the effectiveness of WNHLT prevention in the framework of population dispensation.

Thus, the efficiency of work:

-Medical: as a result of the conducted research, the effectiveness of the use of a new scheme of complex treatment of various types of WNHLT, taking into account the prevention of secondary infection with the use of new modern technologies, has been proven

- Social: the conducted research allows to improve the complex surgical treatment of this category of patients, reduces the number of postoperative complications, which leads to an increase in the quality of life of patients.

-Economic: the economic effectiveness of the study consists in reducing financial costs for treatment measures in patients with WNHLT by increasing the effectiveness of treatment, as well as in reducing the number of bed-days of inpatient treatment.

Possible field of application: surgical departments treating patients with various types of WNHLT.

The dissertation is a fragment of the research work of the Department of Surgery No. 2 of the Kharkiv National Medical University "Improvement and development of methods of diagnosis and surgical treatment of diseases and injuries of organs of the abdominal cavity and chest, vessels of the upper and lower extremities using minimally invasive techniques in patients at high risk of development postoperative complications", state registration number 0116U004991.

**Key words:** wounds that do not heal for a long time, cord blood components, surgical treatment, treatment results, trophic ulcer, inflammation, soft tissues, antibiotic resistance, quality of life, conservative treatment.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

*Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. **Гольцев К. А.**, Криворучко І. А., Гольцев А., Пархоменко К. Ю., Хорошун Е. (2021). Use of Modern Cryomethods in Combined Surgical Treatment of Patients with Purulent Chronic Wounds. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 31. 109-115. 10.15407/cryo31.02.109.
2. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Іванова Ю.В., Чеверда В.М. Лікування гнійних ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються, за допомогою VAC-терапії. *ХХІІІ*, 2021, № 3(108), стр. 38-42, DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2021.08>
3. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Гольцев А.М., Пархоменко К.Ю., Чеверда В.М. Вплив тучних клітин на патогенетичні ланки механізмів запалення у хворих із гнійними ранами, що тривало не загоюються. *Харківська хірургічна школа* 2020. 4(103) 43-47. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.4.2020.08>
4. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Гольцев А.М., Сивожелезов А.В., Сикал Н.О., Тонкоглас О.А. Сучасні підходи до комплексного хірургічного лікування гнійних ран, що тривало не загоюються. *ХХІІІ*, 2020.5-6(104-105) 61-66. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.5-6.2020.11>
5. **Гольцев К.А.** Використання вакуумної терапії в комплексному хірургічному лікуванні ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються. *Харківська хірургічна школа*. 2022. 6(117). 35-49. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.6.2022.08>.
6. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Чеверда В.М. Особливості патогенезу гнійних ран нижніх кінцівок, що довго не гояться (огляд літератури). *Харківська хірургічна школа*. 2023. 3(120). 81-89. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.3.2023.15>.

7. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Чеверда В.М. Особливості патогенезу гнійних ран нижніх кінцівок, що довго не гояться 2023.1–2(118–119). 157-165. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.1-2.2023.32>
8. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Гольцев А.М., Іванова Ю.В., Чеверда В.М., Мясоєдов К.В. Використання сучасних кріометодів в комплексному хірургічному лікуванні пацієнтів із гнійними ранами, що тривало не загоюються. Problems of Cryobiology & Cryomedicine / Problemy Kriobiologii i Kriomedicyny, 2021, Vol 31, Issue 2, p109 DOI:10.15407/cryo31/102/09

***Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:***

9. Kryvoruchko IA, **Goltsev KA**, Ivanova Yu V, Cheverda VM. The Use of Negative Pressure Wound Treatment of Chronic Non-Healing Wounds. Acta Scientific Medical Sciences (ISSN: 2582-0931). Vol.5 Issue 3 March 2021. ISSN: 2582-0931
10. **Goltsev K.A.**, Zamiatin P.N. Remote thermometric study of changed skin coats in patients with purulently non-healing wounds. Deutscher Wissenschaftsherold. German Science Herald, 2021. 1. 67-73. DOI:10.19221/202112
11. **Goltsev K.A.**, Krivoruchko I.A., Parkhomenko K. Yu. Modern approaches to comprehensive surgical treatment of patients with long-to-heal wounds. Abstracts of II International Scientific and Practical Conference «Science and practical technologies». January 26–29, 2021. Luxembourg. 236-240

***Наукові праці, які додатково відображають результати дисертації:***

12. **Гольцев АМ**, Тараннік ГК, Гриша І Г, Сокіл Л В, Бондарович МО, Останков МВ, Луценко ОД, Гольцев КА, Останкова ЛВ. Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини Патент на корисну модель UA 113006, МПК А01N 1/02, Заявл. 06.06.2016, №201606081, Опубл. 10.01.2017, бюл. №1.

13. **Гольцев А.М.**, Мосійчук В.В., Гольцев К.А., Тараннік Г.К., Сокіл Л.В., Останков М.В., Бондарович М.О., Гриша І.Г., Чернишенко Л.Г. Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини. Патент України на корисну модель № 117780, МПК А01N 1/02, Заявл. 04.01.2017, № u 2017 00170, Публ. 10.07.2017, Бюл. № 13.

## ЗМІСТ

|   |           |
|---|-----------|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....   | 19        |
| ВСТУП .....   | 20        |
| <b>РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ПИТАНЬ ДІАГНОСТИКИ Й<br/>КОМПЛЕКСНОГО ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА РАНИ,<br/>ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ (огляд літератури) .....</b>  | <b>36</b> |
| 1.1 Структура, класифікація та основні види нозологічних форм<br>захворювань, які призводять до формування ран, що тривало не<br>загоюються.....                  | 36        |
| 1.2 Особливості перебігу ранового процесу у хворих із ранами,<br>що тривало не загоюються .....   | 43        |
| 1.3 Сучасні погляди на патофізіологічні механізми та етіопатогенез<br>гнійних ран, що тривало не загоюються .....   | 45        |
| 1.4 Сучасні підходи до комплексного хірургічного лікування<br>гнійних ран, що тривало не загоюються.....  | 49        |
| 1.5 Використання сучасних кріометодів в лікуванні гнійних ран,<br>що тривало не загоюються .....  | 59        |
| <b>РОЗДІЛ 2 ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ: МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ .....</b>   | <b>66</b> |
| 2.1 Загальна характеристика груп хворих .....   | 66        |
| 2.2 Методи клініко-лабораторного та інструментального дослідження   | 72        |
| 2.3 Вибір відповідного методу лікування .....   | 81        |
| 2.4 Статистична обробка даних .....   | 82        |
| <b>РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОГО СТАТУСУ І ПОРУШЕННЯ<br/>БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ ІЗ РАНАМИ, ЩО ТРИВАЛО<br/>НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ ДО ПРОВЕДЕННЯ ЛІКУВАННЯ.....</b> | <b>84</b> |

|  |     |
|--|-----|
| 3.1 Дослідження неспецифічної резистентності та бар'єрних функцій у хворих із ранами, що тривало не загоюються, до проведення лікування .....        | 84  |
| 3.2 Особливості біохімічних змін у хворих із ранами, що тривало не загоюються, до проведення лікування .....   | 94  |
| РОЗДІЛ 4 РЕЗУЛЬТАТИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ РАН, ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ, РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ .....  | 101 |
| РОЗДІЛ 5 ВИБІР МЕТОДУ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ГНІЙНИХ РАН НИЖНІХ КІНЦІВОК, ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ .....   | 123 |
| РОЗДІЛ 6 РОЗРОБКА МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ ІЗ ГРТНЗ Й ДИНАМІКА ІМУНОЛОГІЧНИХ І БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОГО ЛІКУВАННЯ .....              | 138 |
| 6.1 Розробка і клінічне використання нових схем комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ та та моніторингу результатів їх проведення ..... | 138 |
| 6.2 Особливості змін біохімічних показників в динаміці у хворих із ГРТНЗ після проведення лікування .....  | 142 |
| 6.3 Дослідження стану імунологічних показників у хворих із ГРТНЗ після проведення лікування .....  | 148 |
| 6.4 Динаміка розвитку метаболічних та імунних порушень на основі контролю стану деяких ланок імунної відповіді у хворих із РТНЗ .....                | 154 |
| АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .....   | 163 |
| ВИСНОВКИ .....   | 179 |
| ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....   | 182 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ .....  | 183 |
| ДОДАТКИ .....  | 207 |

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

- АІР – аутоімунна реакція;  
АЛТ – аланінамінотрансфераза;  
АСТ – аспартатамінотрансфераза;  
БАР – біологічно активні речовини;  
ВЗП – відсоток зменшення площі;  
ГЕПР – гранулярний ендоплазматичний ретикулум;  
РТНЗ – рани, що тривало не загоюються;  
ДНП – дезоксинуклеопротеїди;  
ЕП – екстракт плаценти;  
ІС – імунна система;  
ККЛ – кордова кров людини;  
КСК – кровотворні стовбурові клітини;  
КСКК – кріоконсервована сироватка кордової крові;  
ЛДГ – лактатдегідрогеназа;  
МСК – мезенхімальні стовбурові клітини;  
ПСММ – пептиди середньої молекулярної маси;  
ПФПК – фетоплацентарний комплекс;  
РНП – рибонуклеопротеїди;  
СРБ – С - реактивний білок;  
ТБК – тіобарбітурова кислота;  
ФІММ – фактор, що інгібує міграцію моноцитів й макрофагів  
ШЗ – швидкість заживлення;  
ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів;  
NPWT – negative pressure wound therapy;  
VAC-терапія - vacuum-assisted closure.

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Лікування ран, що тривало не загоюються (РТНЗ), залишається однією з актуальних медичних завдань. За даними різних авторів, частка хворих з гнійно-септичними захворюваннями м'яких тканин становить близько 28-35% від усіх стаціонарних хворих хірургічного профілю [25, 53, 62, 81, 171].

Незважаючи на давність досліджуваного завдання, багато її питань залишаються поки мало вивченими і невирішеними. Найважливішими з них є з'ясування основних етіологічних індукуючих чинників і механізмів, що підтримують перебіг ранового процесу у хворих із РТНЗ. Так, гнійні процеси з тривалим перебігом у вигляді хронічних імунозапальних реакцій при РТНЗ можуть викликати зміну антигенного спектра власних тканин і розвиток локальних реакцій на них власної імунної системи (ІС) у вигляді аутоімунної реакції – АІР [3, 14, 164].

У зв'язку з цим, однією з найважливіших поставлених завдань вирішення даного аспекту є вибір тактичних і стратегічних підходів і методів лікування РТНЗ. Особливість різноманітних проявів даної патології орієнтує лікарів-хірургів на пошук і застосування комплексних підходів з метою оптимізації результатів діагностики і лікування РТНЗ.

Важливим фактором, що сприяє успішному загоєнню гнійних ран м'яких тканин є створення умов для адекватного дренивання її в післяопераційному лікуванні. Розробка методів сучасного активного лікування РТНЗ, пов'язана з переглядом основних положень класичного інцизійно-дренажного способу і зміна самої суті оперативних втручань. Вони передбачають цілеспрямоване хірургічне втручання в зоні гнійного осередку з забезпеченням ефективного дренажу і більш активне лікування гнійної рани у фазі запалення і регенерації [25, 88, 116, 139, 155, 160].

Перспективним шляхом подолання хронізації запального процесу в РТНЗ, стало застосування VAC-терапії (vacuum-assisted closure, NPWT - negative pressure wound therapy). Застосування VAC забезпечує місцевий пролонгований негативний тиск в області гнійної ранової ділянки і знижує інтенсивність ранового відокремлюваного, тим самим сприяючи підтримці вологого середовища в рані, необхідного для створення оптимальних умов загоєння [36, 51, 122, 169]. В основі даної методики лежить застосування спеціальних губчастих пов'язок і вакуумного генератора, що дозволяє створити негативний тиск в рані. Клінічно ефективний метод лікування ран, що тривало не загоюються з використанням VAC-терапії є обґрунтованим і буде застосований як один з компонентів комплексного лікування РТНЗ [6, 29, 31].

Перспективи позитивного вирішення даного завдання з'явилися у зв'язку з введенням в медичну практику кріоконсервованих препаратів фетоплацентарного комплексу (ПФПК). Розробка технології отримання цього матеріалу, ефективного кріоконсервування, обґрунтування клінічного застосування належить Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної Академії Наук України - ІПКіК НАНУ [39, 119]. У широкому спектрі цих препаратів одне з провідних місць займає кордова кров людини (ККЛ). Таким чином, така здатність плазми кордової крові в умовах сумісного використання з VAC-терапією є абсолютно інноваційним напрямком підвищення ефективності лікування гнійних ран різного генезу, що тривало не загоюються.

Невирішені питання в діагностиці та лікувальної тактиці у хворих із РТНЗ, а саме різні підходи до показань щодо хірургічного втручання, визначення термінів та об'єму втручання в залежності від динаміки захворювання й тяжкості стану хворого обумовлюють актуальність проведення даного дослідження. Також актуальність цього дослідження зумовлена патофізіологічними, патогенетичними й клінічними завданнями, вирішення яких певною мірою дозволить поліпшити результати комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ.

В останні роки намітився певний прогрес у розвитку питань клініко-патофізіологічної оцінки РТНЗ. Однак, значна частина досліджень останнього часу ґрунтується лише на теоретичній базі, без підтримки поглибленим аналізом клініко-експериментальних досліджень.

Результати вивчення такого важливого завдання обговорюються на численних вітчизняних і міжнародних конференціях, з'їздах, конгресах і симпозіумах.

Незважаючи на опубліковані останнім часом роботи [4, 9, 12, 24, 25, 32, 56, 72, 96, 122, 126, 151, 171], в яких сформульовані основні положення даного завдання, низка важливих аспектів діагностики та лікування РТНЗ залишається невирішеною або вирішеною частково, оскільки роботи мають принципово описовий характер і лише частково розкривають особливості діагностичної та лікувальної тактики.

Уточнення незрозумілих питань патогенезу, розробка нових критеріїв діагностики, підбір ефективних препаратів базової терапії сприяють пошуку рішення даного завдання. Значна кількість робіт свідчить про участь імунної й ендокринної систем у розвитку захворювань, що формують РТНЗ [67, 96, 158].

Також не висвітлені особливості розпізнавання патологічних зсувів в осередках РТНЗ з використанням сучасних клініко-інструментальних методів, зокрема тепловізійного обладнання, сучасних доклінічних інтегральних фізичних методів, які служать прогностичною основою обґрунтування маркерних інтеграційних метаболічних показників донозологічної діагностики, питання лікування залежно від характеру і ступеня ураження шкірних покривів і підлеглих тканин, проведення сучасних гістоморфологічних досліджень, включно імуногістохімічного аналізу тучних клітин патологічно змінених осередків шкіри в ділянці РТНЗ, а також принципи надання спеціалізованої допомоги таким хворим відповідно до сучасного рівня розвитку доктрини хірургії ран та ранової інфекції.

Єдиних стандартів надання хірургічної допомоги при РТНЗ у даний час в Україні немає, про що свідчать наведені вище показники незадовільних

результатів лікування та їх розкид у хворих з даною патологією. Ці факти сприяють подальшому вивченню фундаментальних уявлень про етіопатогенез РТНЗ на клітино-мембранному, органному і системному рівнях організації організму.

Важливими складовими у формуванні РТНЗ є тканинна гіпоксія й мікроциркуляторні порушення, які впливають на клітинний метаболізм і стан клітинних мембран, що відзначається на рівні клітинного відновлення органу й імунокомпетентних структур. Саме з цими механізмами пов'язують причини несприятливих наслідків захворювання і розвитку ускладнень.

Сучасний стан цього питання характеризується невирішеністю питань та недостатнім відображенням у літературі даних про специфіку ранньої діагностики, хірургічного лікування хворих із РТНЗ, недоліками і недосконалістю схем раціональної лікувально-діагностичної тактики.

Стає очевидним пошук шляхів оцінки стану осередків ураження – шкіри та підлеглих і навколо розташованих тканин у хворих із РТНЗ за допомогою термографії.

Актуальним є пошук нових патогенетично обумовлених методів комплексного хірургічного лікування РТНЗ, що нормалізують гомеостаз на клітинному рівні. Одним з таких методів є новий метод терапії з використанням сучасних препаратів, патогенетичний ефект якої визначається високим відновним потенціалом, що призводить до утворення та синтезу біологічно активних речовин, посилення активності імунокомпетентних клітин, стимуляції репаративних процесів та ін.

Таким чином, розробка сучасного патогенетично обґрунтованого методу хірургічного лікування на підставі вивчення структурно-функціонального стану клітинних мембран при формуванні метаболічних та імунних порушень є актуальною, оскільки дозволить оптимізувати комплексну терапію хворих із РТНЗ шляхом впливу на процеси репаративного неколагеногенезу й стан системи імунного захисту. Крім того, у доступній літературі не існує опису конкретних методик терапії з використанням сучасних схем лікування, що

включають клітинні кріотехнології, що були б спеціально розроблені для хворих із РТНЗ.

Оптимізація та підвищення ефективності лікування хворих цієї категорії може бути досягнута лише при комплексному, об'єктивно обґрунтованому підході до вибору лікувальної тактики, орієнтованої на клініко-патогенетичні особливості з урахуванням метаболічних та імунних порушень і застосуванням нової схеми комплексного лікування.

Все вищезначене зумовило вибір напрямку і доцільність проведення даного наукового дослідження щодо вдосконалення існуючих та пошуку нових способів діагностики і комплексного хірургічного лікування на основі сучасних мініінвазивних кріогенних технологій із впровадженням одержаних результатів в клінічну практику.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри хірургії № 2 Харківського національного медичного університету «Удосконалення та розробка методів діагностики і хірургічного лікування захворювань і травм органів черевної порожнини та грудної клітки, судин верхніх та нижніх кінцівок з використанням мініінвазивних методик у пацієнтів на високий ризик розвитку післяопераційних ускладнень», № державної реєстрації 0116U004991.

**Мета роботи:** підвищити ефективність комплексного хірургічного лікування ран, що тривало не загоюються, з використанням медичного імунобіологічного препарату «Гемокорд-Кріоцел» у комплексі із VАС-терапією.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити клініко-епідеміологічні аспекти РТНЗ на сучасному етапі.
2. Провести комплексну діагностику з обґрунтуванням застосування сучасних методів дослідження для подальшого вивчення показників імунного та біохімічного гомеостазу та його вплив на регрес формування метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

3. У клініці розробити «Спосіб клініко-лабораторної оцінки ефективності комплексного хірургічного лікування» для визначення ступеня регресу розвитку синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

4. Розробити нову сучасну схему комплексного хірургічного лікування гнійних ран, що тривало не загоюються, із застосуванням плазми кордової крові людини «Гемокорд-Кріоцел», опрацювати модифікований у клініці метод ВАК-терапії з впровадженням у хворих із важкими великими поширеними гнійними РТНЗ, визначити вразливість перебігу ранового процесу до -і після лікування за даними бактеріологічного та планіметричного досліджень шляхом обмірювання розміру та обчислювання площі ранової поверхні.

5. На підставі оцінки стану метаболічних порушень і динаміки показників імунного статусу хворих у період прогресуючої стадії захворювання розробити критерії прогнозу клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

6. Провести порівняльну оцінку ефективності результатів застосування різних схем терапії з використанням традиційних лікувальних підходів на основі традиційної базової терапії та запропонованої нової сучасної схеми комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ.

**Об'єкт дослідження** – рани різного генезу, що тривало не загоюються

**Предмет дослідження** – 107 хворих із різними типами ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються .

**Методи дослідження:** клінічні, лабораторні (біохімічні, імунологічні), інструментальні, бактеріологічні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** У дисертаційній роботі надано комплексну порівняльну характеристику детально вивчених особливостей структури, діагностики та хірургічного лікування РТНЗ нижніх кінцівок, що включає динаміку клінічних, клініко-лабораторних, біохімічних та імунологічних параметрів відповідно до стадійності загоєння рани залежно

від фази перебігу ранового процесу з урахуванням клінічної ролі метаболічних та імунних порушень.

Виявлено зміни з боку медіаторних систем, що регулюють перебіг запально-репаративної реакції: виявлено підвищене накопичення прозапальних цитокінів та порушення їх нормального співвідношення, відсутність фіброгенних факторів росту у поєднанні з підвищеною активністю матриксної металопротеїнази-9 в області країв рани, що довго не загоюється.

В дослідженні доведено, що ці порушення стають більш вираженими в ранових дефектах, що існують більше 3 місяців. Даний інтервал часу пропонується використовувати для поділу термінів «тривала незагойна рана» й «трофічна виразка».

Представлено діагностичний алгоритм, що отримав подальший розвиток, і вдосконалено систему об'єктивної оцінки тяжкості стану хворих при РНТЗ, що дозволяє виділити серед них домінуючі критерії та систематизувати хворих за клінічними групами з однотипністю вирішення тактичних завдань, що дало можливість застосувати диференційований підхід до комплексного хірургічного лікування.

У роботі отримано нові дані про взаємозв'язок стану біоенергетики та тканинного дихання в ході ранового процесу, які пояснюють механізми клітинної деструкції, в основі яких лежать елементи імунно-біохімічної дисфункції. Ці положення мають важливе наукове значення при визначенні прогнозу перебігу й потенційної небезпеки виникнення несприятливих наслідків розвитку та формування синдрому метаболічно-імунної дисфункції у хворих із РНТЗ.

Доказано високу клінічну ефективність лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел», розробку технології та отримання, ефективного кріоконсервування та ліофілізації, а також обґрунтування клінічного застосування запропонованого препарату належить Інституту проблем кріобіології та кріомедицини Національної Академії Наук

України - ІПКіК НАНУ, зі співробітниками якого проводилися наші спільні сумісні дослідження й отримані Патенти України.

Дані, що отримано в ході дослідження, продемонстрували безпеку та ефективність спільного клінічного застосування VAC-терапії та лейкоконцентрату кордової крові людини у вигляді медичного імунобіологічного препарату «Гемокорд-Кріоцел».

Застосування нових біотехнологічних методів, що беруть активну участь у відновленні ранових і паравульнарних шкірних покривів, дозволяє вийти на більш високий рівень комплексного хірургічного лікування РТНЗ, знизити летальність та інвалідизацію хворих, скоротити терміни лікування в стаціонарах та амбулаторних умовах, загалом змінити погляди клініцистів давно лікування довготривалих ран, трофічних виразок і великих ранових дефектів.

Усі отримані дані вказують на стійкий стимулюючий ефект лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел» у комплексі із VAC-терапією, покращення загального стану хворих, а також прискорення регенеративних процесів у рані.

Додатково при проведенні морфологічних досліджень встановлено прискорення процесів регенерації ранових тканин. При цьому спостерігалася прискорена фібробластична реакція у підлягаючій ВАК-пов'язці тканини та більш раннє формування прекапілярів, а також показана більш рання регенерація шкірних покривів РТНЗ та епітелізація країв ран.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що після використання кріоконсервованих компонентів кордової крові у рані відбувається нормалізація експресії прозапальних цитокінів, активізація продукції факторів росту, зниження активності матриксної металопротеїнази-9. Це сприяє формуванню нормального позаклітинного матриксу, провізійальної базальної мембрани та прискоренню загоєння ран. Виявлено

особливості репаративних процесів після спільного клінічного застосування VAC-терапії та лейкоконцентрату кордової крові людини у вигляді медичного імунобіологічного препарату «Гемокорд-Кріоцел» - збереження протягом усього процесу загоєння рани інфільтрації моноцитами/макрофагами та мінімальної кількості міофібробластів, тому загоєння ран формування грубого рубця.

На підставі проведеного імуно-гістохімічного дослідженню встановлено, що отримані дані виявили високу інформативність субклітинної організації окістних клітин (ОК) епідермісу, дерми і підлеглих тканин, які дозволили встановити послідовність глибини пошкоджень зазначених шкірних структур. Дані цього дослідження свідчать про те, що найбільш глибоким ушкодженням піддаються клітини епідермісу і лише потім - клітини дерми та підлягаючих тканин.

У роботі продемонстровано, що тривало незагоєні рани та трофічні виразки, незалежно від факторів, що зумовили їх розвиток, характеризуються стереотипними фіброзними змінами з боку складу запального інфільтрату та позаклітинного матрикса: переважанням клітин моноцитарно-макрофагального ряду в запальній кількості хелперів/Т-супресорів, зниженням вмісту колагену, а також мінімальною кількістю міофібробластів в області ранового дефекту.

Доведено, що метаболічні властивості вивчених з'єднань узгоджуються з виявленими дистрофічними і деструктивними порушеннями в організмі хворих із РНТЗ при розвитку метаболічних та імунних порушень, підтверджених при проведенні досліджень на організменному та клітинному рівнях. Результати проведеного клінічного дослідження та запропонованих розробок істотно доповнюють відомості про патогенез, арсенал діагностики та комплексного хірургічного лікування хворих із РНТЗ при застосуванні сучасних технологій, а також є методологічною основою для підвищення ефективності профілактики РНТЗ у рамках диспансеризації населення.

**Практична значимість отриманих результатів.** Розроблено нову сучасну схему комплексного лікування хворих із РНТЗ, що включає поряд із

базовою терапією додатково сеанси VAC-терапії на протязі 5 діб із додаванням препарату «Гемокорд-Кріоцел» на протязі 7 діб, який стимулює тканинне дихання та є метаболічним енергокоректором, а також має антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію.

Запропоновано спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини (Патент на корисну модель UA 113006 від 10.01.2017), що включає технологію охолодження зразка до низької температури і подальше висушування, використання якого дозволило підвищити ефективність стабілізації та збереження усіх дій, властивостей та концентрації розробленого препарату з кордової крові людини [17].

Також розроблено спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини (Патент України на корисну модель № 117780 від 10.07.2017), в основу якого покладено спочатку етап охолодження зразка до низької температури, далі – етап висушування, при цьому охолодження проводять до  $-28^{\circ}\text{C}$ , а висушування – спочатку при  $-28^{\circ}\text{C}$ . С протягом 10 годин, а далі – при  $-15^{\circ}\text{C}$  протягом 2 годин, застосування якого суттєво доповнює можливості зберігання усіх властивостей препарату [18].

Разом із науковими співробітниками Інституту кріобіології та кріомедицини НАН України було розроблено препарат «Гемокорд-Кріоцел», який пройшов клінічний іспит і має фармакологічні ефекти, що обумовлені комплексним впливом речовин, які входять до складу його компонентів. Препарат стимулює дихання й енергоутворення у клітинах, поліпшує процеси утилізації кисню тканинами, відновлює активність ферментів антиоксидантного захисту. Препарат активує внутрішньоклітинний синтез білка, сприяє утилізації глюкози, жирних кислот і ресинтезу в нейронах  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК) через шунт Робертса.

В роботі встановлено позитивну дію лікування хворих із РТНЗ медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел», який застосовували на тлі базисної терапії.

Розроблений комбінований спосіб хірургічного лікування є патогенетично обґрунтованим, високоефективним способом терапії та профілактики РТНЗ. Патогенетичний ефект визначається високим відновним потенціалом, що призводить до утворення та синтезу біологічно активних речовин, посилення активності імунокомпетентних клітин, стимуляції репаративних процесів, а також відновлювання активності ферментів антиоксидантного захисту. Безпечне застосування, доступність такої терапії обґрунтовують доцільність використання засобів, які покращують стан сполучної тканини в лікуванні хворих на РТНЗ і дозволяють рекомендувати їх для впровадження у практику охорони здоров'я. Слід зазначити, що впровадження результатів проведеного дослідження в практику дозволило оптимізувати результати комплексного хірургічного лікування хворих на РТНЗ, сприяло зниженню ліжко-дня і поліпшенню якості їхнього життя в майбутньому.

За методикою клініки розроблено «Спосіб клініко-лабораторного моніторингу проведення комплексного хірургічного лікування РТНЗ» із визначенням вмісту ГАГ, активності ферментів еластази та КЛА сироватки крові. Найбільш високі значення оксипроліну виявилися у пацієнтів із РТНЗ до лікування –  $(34,3 \pm 3,6)$  мкмоль оксипроліну/л·г, а також після лікування в І та II групах порівняння ( $[31,8 \pm 4,3]$  і  $[28,4 \pm 3,5]$  мкмоль оксипроліну/л·г). При цьому в основній групі зафіксовано значне зниження цього показника майже вдвічі –  $(16,8 \pm 6,4)$  мкмоль оксипроліну/л·г порівняно з показниками хворих із РТНЗ до лікування. Однак ці рівні після проведеного лікування були значно нижчими, ніж показники у пацієнтів I і II груп порівняння. Показники КЛА плазми крові у пацієнтів із РТНЗ до лікування перевищували дані умовно-здорових пацієнтів, що забезпечує цьому показнику важливе діагностичне і прогностичне значення при визначенні ступеня регресу розвитку синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ. На підставі проведеного дослідження встановлено підвищення в сироватці крові активності еластази, колагенолітичної активності та вмісту глікозаміногліканів на початку терапії,

що свідчило про структурно-метаболичні порушення з боку сполучної тканини (СТ) шкірних країв рани.

Для практичного використання було розроблено методика прогнозування з підбором критеріальних показників перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічно-імунної дисфункції у хворих із РТНЗ, яка базується на процесах уповільнення прогресування хвороби, максимальної стабілізації процесу та регресу клінічної картини. Комплекс лікувальних заходів включав застосування медикаментозної терапії (антифіброзні, дезінтоксикаційні, судинні, метаболічні, мембраностабілізуючі препарати, вітаміни, антиоксиданти), яка активувала дихання й енергоутворення у клітинах, поліпшувала процеси утилізації кисню тканинами, відновлювала активність ферментів антиоксидантного захисту, що підтверджується нормалізацією рівнів показників структурно-метаболичних порушень в сполучній тканині (еластази, колагенолітичної активності, вмісту глікозоаміногліканів), збільшенням рівнів протизапальних цитокінів інтерлейкінів-4 й інтерлейкінів-10 й вказує на активацію механізмів, спрямованих на згасання патологічного процесу. Вивчено вміст в сироватці крові хворих на РТНЗ про- і антизапальних цитокінів у 1-3 добу після госпіталізації та обґрунтовано їх прогностичне значення для діагностики та оптимізації патогенетичної терапії.

Комплексне лікування призводить до нормальних значень циркулюючих імунних комплексів малого діаметра, імуноглобуліну А, інтерлейкінів-1 і інтерлейкінів-4, фактора некрозу пухлини  $\alpha$ , ефективно і достовірно знижує рівень інтенсивності больового синдрому, а також підвищує час загоєння рани та працездатність.

За допомогою імуно-гістохімічних досліджень доповнено відомості щодо морфо-функціональних зсувів, які відбуваються в ході ранового процесу при впливі різних засобів місцевої та системної терапії з безпосереднім впливом на ранову інфекцію у хворих із РТНЗ. Новизною проведеного імуно-гістохімічного дослідження є комплексність всіх клітинних складових ОК

шкірних структур, що вивчалися, і ультраструктурної організації мікроциркуляторного русла. Другий аспект новизни полягає у пріоритетності порушень біоенергетичних процесів, що викликали зміни ОК та пов'язані з включенням механізмів компенсації. Проведені дослідження розширили уявлення про патогенез формування осередків гнійного запалення та деструктивних змін тканин рани, підтвердили пріоритетність метаболічних порушень у клітинних мішенях при даній патології, дозволили дати прогностичну оцінку подальшого перебігу патологічного процесу та обґрунтувати подальшу тактику ведення хворих із РТНЗ.

Результати проведеного дослідження можуть бути основою для розробки принципів та підходів широкого застосування лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел» у клінічній практиці. Ця технологія та лейкоконцентрат кордової крові людини можуть бути використані при розгортанні в Україні банків кріоконсервованих клітинних препаратів.

Слід підкреслити, що розроблена нова схема комплексного хірургічного лікування хворих з РТНЗ, що включає лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел» сумісно з VАС-терапією повинна застосовуватися і особливо в тих випадках, коли тяжкість стану хворого або наявність супутньої патології не дозволяють дотримуватися активної хірургічної тактики.

Впровадження в клініку результатів досліджень дозволило покращити діагностику і знизити інвалідізацію осіб молодого працездатного віку, привести їх до більш швидкого і повноцінного повернення до трудової діяльності.

Розроблені положення мають важливе практичне значення для визначення прогнозу перебігу та попередження виникнення несприятливих наслідків. Теоретичні положення дисертації та практичні рекомендації за результатами досліджень впроваджені і використовуються в лікувальній практиці та навчальному процесі кафедри хірургії №2 ХНМУ, кафедри хірургії №1 ХНМУ,

ДУ «ІЗНХ ім. В.Т. Зайцева НАМН України», а також хірургічного відділення КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня» Харківської обласної ради та хірургічного відділення КНП «17 міська клінічна лікарня», а також хірургічних відділень КНП «Мерефянська ЦРЛ» та КНП «Чугуївська ЦРЛ».

**Особистий внесок автора.** Ідея дисертаційної роботи, обґрунтування мети, завдань і способів їх вирішення належать автору. Автором особисто проведено аналіз вітчизняної та зарубіжної літератури з цієї тематики, інформаційний пошук, набір клінічного матеріалу, вибір і обґрунтування методів дослідження, статистичну обробку отриманих даних, підготовлено до друку наукові статті, заявки на винаходи, написано дисертацію.

Автор самостійно провів обстеження, лікування і брав участь в понад 90,0% оперативних втручань у хворих із РТНЗ у хірургічній клініці КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня», що є клінічною базою кафедри хірургії №2 ХНМУ, проаналізував і систематизував отримані результати, розробив і впровадив способи і методики для діагностики та хірургічного лікування зазначеної категорії хворих.

Усі опубліковані наукові праці, в яких викладено основні положення і зміст дисертації, є авторськими. З наукових праць, опублікованих у співавторстві, в дисертації використано лише ті ідеї, положення і висновки, які є результатом особистої роботи аспіранта і становлять його індивідуальний науковий внесок. Дисертантом не були використані результати та ідеї співавторів публікацій. Конфлікту інтересів немає.

Планування, організація досліджень по дисертаційній роботі і впровадженню отриманих результатів в практику здійснювалося за участю наукового керівника, завідувача кафедри хірургії № 2 ХНМУ, Лауреата Державної премії України, доктора медичних наук, професора І.А. Криворучка.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дослідження були докладені на наукових засіданнях кафедр хірургії №2 і ДУ «ІЗНХ ім. В.Т. Зайцева НАМН України», що є клінічною базою кафедри хірургії № 1 ХНМУ.

Основні положення дисертації повідомлені та обговорені на засіданні Харківського відділення Асоціації хірургів України; науково-практичній конференції за участі міжнародних спеціалістів, присвяченої Дню науки “Медицина на перетині спеціальностей: сьогодні і майбутнє” (Харків, 2017); XV з’їзді Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (Одеса, 2017); науково-практичній конференції з міжнародним представництвом «Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики», присвяченій 110-річчю з дня народження чл.-кор. АМН СРСР, проф. М.Н. Зайка (Полтава, 2018); II Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Теорія та практика сучасної морфології» (Дніпро, 2018); International Multidisciplinary Conference «Science and Technology of the Present Time: Priority Development Directions of Ukraine and Poland» - Wolomin, Republic of Poland (Wolomin, 2018); 2nd International Conference on Biomedical Sciences "Smart Bio", Lithuania (Kaunas, 2018); Conference Proceedings «The development of medical sciences: problems and solutions», Cech (Brno, 2018); Всеукраїнській науково-практичній конференції алергологів Слобожанщини «Актуальні питання виявлення і лікування алергічних захворювань» (Харків, 2019); VIII Національного конгресу Українського наукового товариства патофізіологів з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров’я України», присвяченого 120-річчю Одеської патофізіологічної школи (Одеса, 2020); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальные проблемы неотложной хирургии» (Харків, 2020 – on line); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» (Харків, 2021); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» (Харків, 2022 – on line); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Неформатна та хірургічна гастроентерологія. Метаболічна мозаїка: хірургія та діабет. Поради і тонкощі в сучасній колопроктології» (Київ-Харків, 2023); Всеукраїнській науково-практичній

конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» (Харків, 2023 – on line); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії», присвяченої 100-річчю з дня народження проф. В.П. Трубнікова (Харків, 2024 – on line);

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 13 наукових праць, у тому числі: 6 статей у фахових наукових виданнях України та 2 – за кордоном; 2 статті в журналі, що індексується у наукометричній базі Scopus, 1 публікація – у збірнику тез, 1 стаття – без співавторів, 1 - у науковій монографії. Отримано 2 Патенти України на винахід.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 206 сторінках друкованого тексту та складається з анотацій (двома мовами), вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який налічує 173, та додатків. Роботу ілюстровано 25 таблицями та 58 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНИЙ СТАН ПИТАНЬ ДІАГНОСТИКИ Й ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ ІЗ РАНАМИ, ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ (огляд літератури)

#### **1.1 Структура, класифікація та основні види нозологічних форм захворювань, які призводять до формування ран, що тривало не загоюються**

Висока поширеність ран, що тривало не загоюються (РТНЗ), в тому числі й гнійних, посідає економічно розвинені країни. У РТНЗ різної етіології страждають до 6,5 мільйонів пацієнтів [81]. Частота захворювань, що супроводжуються формуванням РТНЗ, у Західній Європі та Україні становить 1,4-4,3% населення та залишається незмінною багато років [25, 62, 171]. Серед українських громадян налічується понад 2,5 мільйона пацієнтів із РТНЗ нижніх кінцівок [53].

Термін РТНЗ широко поширений у клінічній медицині, носить збірний характер і не має реєстру у міжнародній класифікації хвороб [78]. Довго незагоєна рана, як правило, виникає у пацієнтів з порушеннями трофіки та іннервації шкіри, зумовленими різними патологічними процесами: хронічними порушеннями артеріального та венозного кровообігу, мікроангіопатією при цукровому діабеті [72]. Рани, що тривало не загоюються, виникають також у випадках глибоких термічних і хімічних пошкоджень шкіри і тканин [7].

До цього часу немає чіткого визначення поняття РТНЗ, не визначено також тимчасовий фактор, що вказує на її формування. Гостра рана може набути характеру хронічної внаслідок персистування інфекції або недостатньої хірургічної обробки та подальшої неадекватної терапії [155].

Так, патоморфології об'єднують поняття «тривало незагоєна рана» і «трофічна виразка», покладаючись на клінічні прояви та процеси, що відбуваються на клітинному та субклітинному рівнях, що характеризуються наявністю хронічного запалення [140]. А серед клініцистів склалася думка, що «тривало незагоєна рана» і «трофічна виразка» - стадії одного процесу, критерієм виділення яких є тимчасовий фактор. Також зустрічається термін «довго незагоєна венозна трофічна виразка» [154].

За поширеною думкою низки дослідників термін «трофічна виразка» має на увазі трофічні виразки нижніх кінцівок на тлі варикозної хвороби, в інших випадках використовується термін «тривало незагоєна рана». Таким чином, рани, що довго не гояться - це, в першу чергу, виразки різної етіології, коли репаративні можливості організму порушені або недостатні. Більшість виразок нижніх кінцівок (близько 80–90%) пов'язані з судинними порушеннями, у тому числі превалюють виразки, що виникають при венозній недостатності і цукровому діабеті [115, 168].

На думку фахівців Європейського товариства репарації тканин РТНЗ - це рана, яка гоїться протягом нормального терміну загоєння тканинного ушкодження подібного типу чи локалізації, тобто. якщо вчасно не загоїлося те, що зазвичай гоїться, це і слід вважати довгостроково незагойною ранюю.

Причин появи таких ран безліч. Всі основні причини існування ран, що довго не гояться, діляться на дві великі групи - внутрішні і зовнішні. Внутрішні причини – це захворювання, пов'язані з венозною чи артеріальною недостатністю, ураженням нервової системи (при діабеті), при системних захворюваннях сполучної тканини, хвороби крові, порушення обміну речовин тощо [103, 113]. Так, наприклад, вважається, що 20% хворих з РТНЗ – це люди, які страждають на цукровий діабет [102, 125, 165, 170]. Зовнішні причини – це найчастіше інфекція, рідше – неправильно підібране лікування. Як правило, у важких випадках причин багато: рани після травми гояться погано у людей з бронхіальною астмою, пролежні частіше зустрічаються у людей з паралічами

та парезами, гангрені частіше зустрічаються у хворих з тяжким атеросклерозом [163].

Кількість захворювань, що супроводжуються розвитком хронічних ран досить велика. Серед них: хронічна венозна недостатність нижніх кінцівок; хронічна артеріальна недостатність нижніх кінцівок; діабетична периферична полінейропатія; Бешиха; захворювання та травми нервової системи; травма, що повторюється; опіки; васкуліти; системні захворювання сполучної тканини; захворювання крові (поліцитемія, лейкемія, тромбоцитопенія, серповидно-клітинна анемія тощо); ліпоїдний некробіоз; емболії; хвороба Бюргера; злоякісні пухлини (саркома Капоші, меланома, базальноклітинна карцинома, метастази тощо); мікози; лікарські реакції; нестача вітаміну В12 та ін. [148].

**Венозні РТНЗ нижніх кінцівок.** Провідною причиною їх розвитку є хронічна венозна недостатність. Варикозні РТНЗ виникають на тлі неспроможності клапанів поверхневих або прободаючих вен або після глибоких тромбозу вен. При цьому патогенетичні механізми розвитку трофічних розладів при хронічній венозній недостатності є загальними та не залежать від причин виникнення. Пусковим моментом в утворенні трофічних виразок є дрібні травми (забиті місця та подряпини) і контактний дерматит [5, 76, 77, 171].

**Артеріальні (ішемічні) РТНЗ.** Захворювання артерій нижніх кінцівок є причиною виникнення РТНЗ у 8–12 % випадків. Вони виникають при декомпенсації артеріального кровообігу, як правило, у чоловіків похилого віку. Характерними ознаками артеріальної недостатності є: переміжна кульгавість, оніміння та похолодання кінцівки, атрофія м'язів, збіднення волосяного покриву, дистрофічне або грибокве ураження шкіри стоп та нігтьових пластин, іноді виявляються ознаки атеросклеротичного ураження інших органів та систем; хвороб серця та головного мозку. Провокуючими моментами можуть бути побутові та виробничі травми, носіння вузького та незручного взуття, переохолодження. Виразки, як правило, локалізуються в області п'ятки,

кінцевій фаланзі великого пальця, на тильній поверхні стопи, рідше на підошві і передньобічній поверхні нижньої третини гомілки [160].

**Нейротрофічні РТНЗ.** Нейротрофічні РТНЗ розвиваються в денервованих ділянках у пацієнтів з ураженням центральної або периферичної нервової системи: при нейропатичній формі синдрому діабетичної стопи, травмах ЦНС і периферичних нервів, захворюваннях, що супроводжуються сенсорною периферичною нейропатією. Такі рани через постійний тиск швидко інфікуються. Епітелізація протікає за дистрофічним типом, без заміщення дефекту тканин у зоні порушеної іннервації [74, 142].

**Застійні РТНЗ.** Утворюються внаслідок декомпенсації серцево-судинної діяльності, частіше – у літньому та старечому віці. Зазвичай розвиваються на обох кінцівках, бувають множинними, великими, мають бліді, в'ялі грануляції, рясно ексудують, іноді нагадують студнеобразную сірий слиз. Шкіра в колі такої виразки набрякла, від натискання на неї пальцем утворюється слід у вигляді ямки, який повільно зникає. Описані гнійно–некротичні трофічні ураження верхньої кінцівки при компресійних синдромах у брахіоцефальній області [20].

**Діабетичні РТНЗ.** Виразково-некротичні ураження стоп виникають, як правило, у хворих на цукровий діабет, ускладнений тяжкою нейропатією з повною або частковою втратою чутливості з боку нижніх кінцівок, і є найчастішим проявом синдрому діабетичної стопи (СДС) [19].

Найважчим ускладненням у цій ситуації є приєднання інфекції зі швидким розвитком вологої гангрени, яка потребує ампутації для порятунку кінцівки [113, 115].

**Змішані трофічні РТНЗ,** що виникають внаслідок кількох етіологічних чинників, становлять щонайменше 15 % всіх виразкових дефектів нижніх кінцівок. Найчастіше поєднується патологія артерій та вен, артерій та діабетичної нейропатії, патологія вен та тяжкої недостатності кровообігу.

Успіхом слід вважати ліквідацію запального процесу, зменшення ексудації, перехід ранового процесу у II стадію та ліквідацію больового

синдрому. Найчастіше зустрічаються змішані РТНЗ артеріально-венозної етіології, що становлять певні труднощі для діагностики та лікування. У цьому випадку лікування має бути спрямоване на корекцію всіх патогенетичних ланок, що формують шкірну виразку при РТНЗ [7].

**Гіпертензійно-ішемічні РТНЗ.** Гіпертензійна (гіпертонічна) ішемічна РТНЗ вперше описана іспанським кардіологом Мартореллом. Синдром Марторелла у «чистому» вигляді, як його описував автор, зустрічається рідко - трохи більше 2 % всіх виразково-некротичних поразок нижніх кінцівок. Найчастіше виникає у жіночої частини населення старшої вікової групи (після 40 років) із тяжкими формами артеріальної гіпертензії. РТНЗ Марторелла зазвичай розташована на зовнішній або задній поверхні гомілки, нерідко на симетричних ділянках гомілок. Для виразок характерна різка болючість як у стані спокою, так і при пальпації [95].

**Піогенні РТНЗ.** РТНЗ даної етіології виникають здебільшого у хворих із соціально неблагополучних груп населення на тлі неспецифічних гнійних захворювань м'яких тканин, таких як піодермії, інфіковані рани, шкірні дефекти, що виникли після перенесеної ускладненої пики, карбункулу, абсцесу та флегмони. Вони являють собою множинні поверхневі гнійні вогнища округлої форми, покриті густим гнійним нальотом з вираженою перифокальною запальною реакцією. Їх розвиток зазвичай викликають грампозитивні коки, значно рідше – грамнегативні палички. Важливим діагностичним критерієм вважають синдром системної запальної реакції за відсутності ознак ураження судинних систем кінцівки та інших причин виразки. Зазначені РТНЗ відрізняються тривалим і наполегливим перебігом [86].

**Післятравматичні РТНЗ.** Причини посттравматичних РТНЗ досить різноманітні: група хронічних дефектів шкіри, що виникають після різних механічних (садна, переломи, пролежні), термічних (опіки) та інших пошкоджень шкіри, у тому числі оперативних втручань. РТНЗ, спричинені тяжким локальним порушенням мікроциркуляції після досить сильного

впливу травматичного агента, необхідно відрізнити від виразкових дефектів, що розвинулися на тлі венозної, артеріальної, неврологічної та іншої патології, де механічне ушкодження стало лише поштовхом до розвитку виразки [86].

**РТНЗ на тлі злоякісних новоутворень** виникають в результаті розпаду та виразки пухлин шкіри (меланома, базальноклітинний рак та ін.), злоякісних пухлин м'яких тканин і кісток (аденокарциноми молочної залози, фібросаркоми, рабдоміосаркоми, остеосаркоми, остеошкіри). підшкірні лімфатичні вузли, становлять трохи більше 1-1,5 % випадків всіх виразково-некротичних уражень нижніх кінцівок. У ряду хворих трофічні виразки розвиваються в результаті виразково-некротичного васкуліту, який також вважають за прояв паранеопластичного синдрому. Виразки при злоякісних захворюваннях шкіри та м'яких тканин у більшості випадків ознака пізньої стадії, що свідчить про несприятливий прогноз не тільки для загоєння трофічної виразки, але й щодо тривалості та якості життя [138].

**РТНЗ на фоні системних захворювань сполучної тканини.** РТНЗ на фоні хвороб крові, обміну речовин, васкулітів, колагенозів, зазвичай, не мають специфічних ознак. Для розпізнавання їхньої природи велике значення має діагностика основного захворювання. При тривалому атиповому перебігу таких РТНЗ, без тенденції до регенерації, а також у разі виявлення синдромів, що свідчать про системне аутоімунне ураження органів та тканин (поліартрити, полісерозити, ураження внутрішніх органів), доцільно провести цілеспрямоване обстеження пацієнтів на предмет діагностики системних захворювань сполучної тканини. РТНЗ починаються зі шкірного дефекту, що виникає внаслідок некротичного васкуліту. При системних захворюваннях сполучної тканини РТНЗ частіше вражають нижні кінцівки (гомілка, стопа), але можлива і атипова локалізація (стегна, сідниці, тулуб, верхні кінцівки, голова) [3, 164].

**Променеві РТНЗ.** Променеві РТНЗ виникають у пацієнтів, які мали контакт з проникаючим випромінюванням, які раніше отримували променеву терапію. Відмінністю променевих поразок від опіків і те, що він передус

тривалий прихований період, що коливається від 16 діб до 7 років. Іноді у хворих, які отримали короткофокусну променеви терапію, невдовзі після опромінення можуть з'являтися бульбашки, кірки, застійна гіперемія. Як ранні, так і пізні зміни шкіри – поверхневі та глибокі склерози, атрофія шкіри та підшкірної клітковини – є тим фоном, на якому розвивається виразка. РТНЗ проникають глибоко в підшкірну клітковину, м'язи, а нерідко вражають і кістку [86].

**РТНЗ на фоні інших захворювань.** У деяких випадках РТНЗ може бути проявом деяких захворювань. Приблизно у 10% пацієнтів, які страждають на хворобу Крона, неспецифічний виразковий коліт, відзначається гангренозна піодермія.

Відмінними особливостями РТНЗ, що виникли на тлі гангренозної піодермії, є наявність множинних, різко болючих гнійно-некротичних дефектів шкіри, що поступово збільшуються в розмірах, синюшні краї і кільце гіперемії. Локалізуються трофічні виразки переважно на стопах і гомілкях [137].

**Фагеденічні РТНЗ.** У літературі можна зустріти кілька термінологічних синонімів, що застосовуються до цього виду РТНЗ: прогресуюча епіфасціальна гангрена, прогресуюча епіфасціальна флегмона, синергічний підшкірний целюліт, некротична форма бешихи. У будь-якому випадку захворювання є швидко прогресуючою інфекцією поверхневих фасціальних структур, з розвитком некрозу шкіри і підшкірної клітковини над ними, без первинного залучення в патологічний процес підлягають м'язів, що супроводжується вираженою інтоксикацією і больовим синдромом. Запальний процес прогресує у міжфасціальному прошарку пухкої сполучної тканини, наростаючий внутрішньотканинний тиск порушує трофіку нервових закінчень, викликаючи інтенсивний біль. В результаті описаного процесу підшкірна клітковина та шкіра відшаровуються від м'язів [136].

**Артіфікаційні РТНЗ.** Це штучно завдані ушкодження з метою симуляції, членушкодження. Локалізуються на найбільш зручних для маніпуляцій

ділянках людського тіла, частіше на стопі та стегні. Розпізнавання їх має судово-медичне значення [151].

**Рідкісні види інфекційних РТНЗ.** У літературі також зустрічається термін хвороба Базена, або індуративна еритема Базена. РТНЗ туберкульозного походження (туберкуліди), як випливає з назви, мають туберкульозну природу. Тому, приступаючи до обстеження та лікування хворих на трофічні виразки, необхідно ретельно зібрати анамнез щодо перенесених захворювань, таких як туберкульоз, сифіліс, гонорея. Сифілітичні виразки найчастіше розташовані у верхній третині гомілки. Вказівка хворого на перенесені захворювання чи лабораторне підтвердження наявності сифілісу полегшує діагностику. Також існують дуже рідкісні види РТНЗ, які зустрічаються в деяких регіонах: виразка Бурулі – інфекційна тропічна хвороба; тропічна виразка або виразка Нага, шкірне захворювання, що часто зустрічається в регіонах з вологим тропічним кліматом; характеризується появою великої відкритої, покритої струпами виразки дома нещодавно отриманої рани чи садна найчастіше на ногах; тропічні фагеденічні виразки; лейшманіоз, рикетсіоз; онхоцеркоз [152].

## **1.2 Особливості перебігу ранового процесу у хворих із РТНЗ**

Протягом ранового процесу у хворих із РТНЗ виділяють три фази: запалення, проліферація та контракція, що супроводжується руйнуванням епітеліального покриву, позаклітинного матриксу, ендотелію кровоносних судин, внаслідок чого запускається процес тромбоутворення.

Крім гемостатичної функції, кров'яний потік забезпечує міграцію клітин у область ушкодження. Перші поліморфно-ядерні лейкоцити з'являються в рані вже через кілька хвилин після пошкодження, досягаючи максимуму через 24-48 годин, потім їхня кількість поступово знижується, але навіть на пізніх стадіях загоєння вони зустрічаються у запальному інфільтраті.

На перебіг ранового процесу у хворих із РТНЗ впливають моноцити і макрофаги, коли взаємодіють з міжклітинним матриксом та іншими

клітинними популяціями за допомогою медіаторів, що секретуються. Через інтегринові рецептори макрофаги зв'язуються із компонентами позаклітинного матриксу (ПКМ), активуючи фагоцитоз. Внаслідок складних міжклітинних взаємодій виникають міграція, прискорена проліферація та диференціювання фібробластів, синтез та секреція колагену, інших компонентів матриксу. Утворюється грануляційна тканина, яка заповнює рановий простір [14].

В утвореній стромі (грануляційної тканини) активно відбувається неоваскуляризація – складний комплексний процес, що тісно пов'язаний з ремоделюванням ПКМ та мітогенною активацією ендотеліальних клітин. Останні експресують фібронектинові рецептори на поверхні. В результаті розташований периваскулярно фібронектин служить напрямним для кровоносних судин, що ростуть. Для нормального ангиогенезу також необхідні синтез та активація протеїназ [131].

Основними елементами сполучної тканини (СТ) є колагени I та III типів. Мікрооточення, зміна спектру синтезованих субстратспецифічних протеїназ та їх інгібіторів викликають якісні та кількісні зміни колагенів, їх співвідношення. У індукції синтезу колагену беруть участь медіатори ефекторних клітин [123].

Також на перебіг ранового процесу у хворих із РТНЗ великий вплив мають прилеглі до області ушкодження кератиноцити, що синтезують різні ізоформи. Останні мають складну регулюючу дію на міграцію, проліферацію фібробластів, продукцію ПКМ. До пошкодження тканин призводять послаблення міжклітинних контактів, зв'язку клітин з базальною мембраною, формування периферичних цитоплазматичних актинових філаментів, втрата поверхні епідермальних клітин інтегринових рецепторів [15].

Сьогодні завдяки новим сучасним технологіям у хворих із РТНЗ стає можливим клініко-інструментальний моніторинг динамики ранового процесу із використанням інфрачервоної термографії, за допомогою якої також можна здійснювати вплив до перебігу ранового процесу при [73, 100].

### **1.3 Сучасні погляди на патофізіологічні механізми та етіопатогенез гнійних ран, що тривало не загоюються**

На теперішній час за допомогою проведення молекулярно-морфологічних досліджень продовжують вивчатися закономірності цито- та гістогенезу, дивергенції, гетероморфії, гетерокінезу та гетерохронії, що лежать в основі формування як адаптивних змін, так і патологічних станів тканин. З цих позицій звертають на себе увагу огрядні клітини (ОК), які мають широкі можливості в регуляції місцевого гомеостазу у хворих з РТНЗ [66, 121, 134].

Останнім часом з'явилося багато даних про роль ОК запальних захворюваннях; вони беруть активну участь у всіх фазах ранового процесу, організуючи імунологічні та запальні реакції, зупиняють процес активного пошкодження та беруть участь у процесі загоєння рани [11, 130].

У межах специфічного тканинного мікрооточення шкіри ОК володіють унікальними потенціями у формуванні проникності судин, розвитку алергічних та імунних реакцій, визначенні проліферативної активності клітин, індукції апоптозу, фагоцитозу і т. ін. Враховуючи відомий селективний вплив триптази ОК на головні патогенетичні ланки реалізації гострого та хронічного запалення, дослідження її біології у діяльності сполучної тканини (СТ) шкіри при наявних трофічних порушеннях має особливе значення у хірургії [67].

Відповідь ОК на ушкодження універсальна та проявляється тотальною дегрануляцією біологічно активних речовин. Поряд із процесами дегрануляції існує процес міграції, що призводить до перерозподілу ОК. Репаративний гістогенез супроводжується складними взаємодіями між множинними типами клітин, розчинними факторами та компонентами ПКМ [91].

ОК - це гетерогенна клітинна популяція, що проявляється в їх здатності експресувати хімазу або триптазу [66]. Інша специфічна протеаза ОК - хімаза - володіє власними молекулярними мішенями у розвитку запалення та алергії, реалізації ангіогенезу та ремоделювання позаклітинного матриксу сполучної тканини [91].

Хімаза має властивості хімотрипсину, а триптаза має властивості, подібні до таких у трипсину. Серинові протеази вивільняються з опасистих клітин на ранніх стадіях запалення. Хімаза і триптаза разом легко руйнують позаклітинний матрикс для підготовки до наступної стадії загоєння рани, яка є проліферацією фіброblastів і ендотеліальних клітин, при цьому не тільки мають властивість впливати на міжклітинну речовину, але також здатні вибірково активувати матриксні металопротеїнази (ММП), що виділяються іншими у неактивній формі. Обидва ферменти здатні ремоделювати ПКМ: хімаза через активацію ММП-9 і -2, і желатинази А і В, а триптаза через активацію ММП-3, щоб полегшити переміщення ендотеліальних клітин при новоутворенні судин. Нарешті, протеази ОК, як поліфункціональні компоненти секретому, являють собою перспективну фармакологічну мету, що має високу інформативність і важливе діагностичне значення [80].

Відповідно до свого багатофункціонального характеру ОК при активації вивільняють і прозапальні медіатори, протизапальні та імуносупресивні цитокіни, що вказує на їхню здатність як стимулювати, так і пригнічувати імунну систему. На різних етапах ранового процесу дегрануляцію опасистих клітин та зміну чисельності даної популяції слід розглядати як складову частину компенсаторно-приспосувальної реакції на пошкодження. За останнє десятиліття було досягнуто великого прогресу у визначенні функцій ОК під час нормального процесу загоєння, описано їх важливі особливості, які передбачають альтернативу раніше відомої ролі ОК у загоєнні ран [117, 124].

Слід зазначити характерне зростання обсягу популяції ОК у шкірі з РТНЗ. З одного боку це може свідчити про розвиток адаптивних реакцій за участю ОК за допомогою секреції біологічно активних речовин, зокрема гепарину. Гепарин являє собою високомолекулярну сполуку класу кислих глікозаміногліканів, що продукується в межах тканинного мікрооточення, переважно опасистими клітинами [80].

Ефективність детекції ОК за властивостями метахромазії, багато в чому обумовленої гепарином, за умов патології суттєво знижується. Очевидно, при

хронічно поточних порушеннях кровообігу та тривалої гіпоксії формується дефіцит гепарину, обмежуючи його адаптивний потенціал у дермі шкіри, сприяючи розвитку антагоністичних ефектів гістаміну. Крім того, можна свідчити про посилення біоефектів специфічних протеазів на структури шкіри. Зокрема, відома активність триптази щодо ініціації розвитку запалення за допомогою підвищення проникності стінки капілярів, зростання спрямованої міграції еозинофілів, нейтрофілів, базофілів та моноцитів крізь стінку елементів мікроциркуляторного русла [121, 167].

Триптаза проковує ендотелій до біогенезу кінінів, ІЛ-1 та ІЛ-8, а також білка міжклітинної адгезії ICAM-1. Активація триптазою секреції клітинами тканинного мікрооточення специфічних цитокінів та хемокінів створює прозапальні морфогенетичні поля. Таким чином, триптаза може бути залучена до ключових механізмів тривалого персистування умов формування нейротрофічних виразок шкіри, будучи потужним тригером у прогресуванні захворювання [142].

Слід враховувати також формування патогенетичного кола за участю триптази та гістаміну. Триптаза призводить до стимуляції вивільнення гістаміну з інших клітин, що, у свою чергу, проковує подальше посилення секреції серинової протеази. В результаті під впливом гістаміну в процес дегрануляції залучаються нові ОК, розширюючи територію ефектів прозапального медіатора в шкірі. Одночасно зростання триптаза-позитивних ОК можна певною мірою інтерпретувати зі своїм впливом на утворення судин на певних ділянках шкіри за наявності тканинної гіпоксії. Триптаза сприяє новоутворенню судин завдяки активному ремоделюванню сполучної тканини з деградацією компонентів екстрацелюлярного матриксу [67].

Разом з цим триптаза призводить до посилення секреції клітинами фібробластичного диферону факторів росту, хемокінів, цитокінів та матриксних металопротеїназ (ММП). Також триптаза здатна викликати міграцію клітин фібробластичного диферона разом з активізацією в них

продукції колагенових білків, що може створювати передумови до надмірного утворення позаклітинного компонента сполучної тканини шкіри [94].

З терапевтичної точки зору важлива здатність хімази людини дуже активно гідролізувати ангіотензин I до ангіотензину II, беручи участь як у локальних, так і системних механізмах регуляції артеріального тиску. Можливо, що посилення експресії та секреції хімази у хворих з трофічними виразками вдруге може відбиватися на рівні артеріального тиску. У свою чергу ангіотензин II має власні ефекти щодо регуляції мітотичної активності, зростання клітин, утворення судин та ремоделювання тканин. Хімаза, порівняно з триптазою, має більш виражений деструктивний потенціал щодо компонентів екстрацелюлярного матриксу, незважаючи на меншу стійкість до внутрішньотканинної нейтралізації за допомогою відповідних блокаторів пептидаз [90, 156].

Слід зазначити, що, виявлення високої кількості волокнистого компонента в дермі шкіри в області трофічних виразок може бути викликане підвищеною секрецією хімази ОК-клітинами. Отримані у роботі дані корелюють з результатами досліджень, що показали значення хімази в утворенні келоїдних рубців шкіри [141].

Тривале незагоєння трофічних ран та утруднення їх епітелізації також може бути обумовлено деградуючими ефектами хімази на структури, що забезпечують прикріплення клітин епідермісу один до одного та базальної мембрани, що зменшує розмежувальну та захисну функції епітелію [156].

Комплексна взаємодія різних клітин, медіаторів та компонентів ПКМ призводить до контракції рани. З 7-ї по 14-ту добу ранового процесу фібробласти набувають фенотипу міофібробластів, що свідчить про формування повноцінної сполучної тканини [23].

До розвитку келоїдного рубця може призводити порушення нормальної експресії продуктів генів-регуляторів апоптозу, що призводить до порушення апоптозу фібробластів на стадії трансформації грануляційної тканини в зрілу

сполучну; - другим варіантом порушення нормального загоєння є рани, що тривало не загоюються [23, 172].

Незважаючи на те, що РТНЗ є проявом або декомпенсацією основного захворювання, тривале існування виразкового дефекту може призводити до різних ускладнень. Останні призводять до погіршення загального стану та вимагають екстреної госпіталізації значної частини хворих [109].

До основних ускладнень відносяться: периульцерозні ускладнення - дерматит, екзема, целюліт, піодермія, бешихове запалення, флегмона, анаеробна інфекція; тендиніт, періостит, контактний остеомієліт; тромбофлебіт; лімфангоїт, регіонарний лімфаденіт, вторинна лімфедема; артрит, артроз; правець; кровотеча; малігнізація; зараження личинками комах (рановий міаз); формування хронічного компартмент-синдрому [33].

Таким чином, на теперішній час досягнуто значного прогресу в розумінні молекулярних механізмів основних фаз нормального та ускладненого ранового процесу. Новим кроком на шляху до ефективного вирішення соціально-значущого завдання хірургічного лікування великих ранових дефектів може стати подальше вивчення процесів прямої міжклітинної взаємодії та вибір білків конексинів як індикаторів стану процесу загоєння та мішені для патогенетичного впливу. Ще не вироблено чіткий механізм прогнозування виходів у хворих з РТНЗ і його ускладненнями, що диктує необхідність продовження досліджень у цьому напрямку.

#### **1.4 Сучасні підходи до комплексного хірургічного лікування гнійних ран, що тривало не загоюються**

Досягти позитивного ефекту лікування пацієнта з раною, що довго не загоюється, можливо тільки, якщо розірвати ланцюг патологічних змін і ліквідувати причину появи РТНЗ, починаючи із виконання вимог призначеної дієти [99, 135]. Не підлягає обговоренню, що радикальне лікування основного захворювання в більшості випадків, наприклад, цукрового діабету, гарантує загоєння ранового дефекту у хворих із РТНЗ [8, 26]. Однак найчастіше

радикальне лікування неможливе (ПТФХ, дистальне ураження артеріального русла з хронічною критичною ішемією, нейротрофічні виразки тощо) та місцева терапія є єдиним методом впливу на РТНЗ [12]. У будь-якому випадку підхід до лікування хворих із РТНЗ має бути мультидисциплінарним, що включає як консервативні, так і сучасні хірургічні методи [25, 139].

Існують керуючі принципи, що ґрунтуються на фактичних даних австралійських вчених, де вказано, що повноцінний комплекс обстеження та лікування пацієнта із РТНЗ повинен включати: деталізований анамнез та огляд, додаткові методи дослідження, що передбачають прогнозування перебігу ранового процесу [127]; стабілізацію стану пацієнта, компенсацію супутньої ранового процесу соматичної патології (як правило, цукровий діабет, серцева недостатність, атеросклероз та ін.) [127, 139]; загальну терапію та адекватний вплив безпосередньо на рану [54-57].

Комплексний підхід до лікування РТНЗ нижніх кінцівок, представлений основними рекомендаціями з лікування та ведення хворих такої категорії низкою вчених, включає: системну медикаментозну терапію, яка, залежно від основного захворювання, спрямована на ерадикацію патогенної мікрофлори в рані та оточуючих тканинах, поліпшення мікроциркуляції та лімфовідтоку, купірування запалення та знеболювальних систем; реакцій, імуномодуляцію [96]; компресійну терапію, яка є основою лікувально-профілактичних заходів при захворюваннях венозної та лімфатичної систем, сприяючи усунуванню набряку кінцівки [128]; підбір індивідуального ортопедичного взуття, особливо у пацієнтів з нейротрофічними виразками, цукровим діабетом, а також фізіотерапевтичні методи впливу на організм [84, 107]; місцеве лікування РТНЗ, спрямоване на ліквідацію гнійно-некротичного процесу та запальних змін у рані; перифокального запалення, санацію рани та захист шкіри навколо РТНЗ [87]; стимуляцію репаративних процесів у зоні рани; за показаннями застосовують дерматопластику ранових дефектів [88, 89, 104, 116, 160].

**Місцеве лікування РТНЗ.** Незважаючи на різні підходи патогенетичної терапії, принципи місцевого лікування РТНЗ нижніх кінцівок багато в чому схожі. Так, ще на початку 2000-х років була сформульована теорія обробки основи рани з метою переведення РТНЗ в гостру та видалення як некротичного компонента, що складалася з нежиттєздатних тканин, так і фенотипно змінених клітин краю і основи рани, а також з ексудату, що продукується ними. Слід зазначити, що саме обробка дна рани сприяє переведенню хронічної рани в стан гострої і є основою активації ендogenous процесів регенерації тканин [101]. Необхідність подібної агресивної обробки диктується цілою низкою причин. Насамперед наявність некротичних тканин та плівки фібрину є потенційним субстратом розвитку інфекційних ускладнень. Крім того, клітинні лінії, що знаходяться в краї хронічної рани, зазнають фенотипічної трансформації, що веде до порушення регенераційних процесів [69].

В даний час створено велику кількість ранових пов'язок, які зберігають певну силу впливу на рану. З'явилися нові високотехнологічні перев'язувальні матеріали, застосування яких безперечно сприяє прискоренню загоєння хронічних ран [72].

Хірургічна обробка ран з використанням скальпеля або ножиць є одним з найважливіших аспектів місцевого лікування та включає поетапне видалення некротичних тканин, фібринової плівки, висічення країв рани, що містять фенотипно змінені клітини. Хірургічна обробка виконується зі знеболюванням у стаціонарі з метою переведення хронічної рани в гостру, що скорочує ексудацію, час до епітелізації, знижується ризик інфекційних ускладнень [46].

Основними варіантами використання некретомії в лікуванні РТНЗ є: дебридмент з одномоментною пластикою дефекту тканин, так звана ліподермектомія: дерматомом тонкими горизонтальними шарами зрізають змінену шкіру та підшкірну клітковину до зникнення ознак склерозу та появи дифузної. Фасцію гомілки не резецирують, дефект шкіри закривають перфорованим аутодермотрансплантатом товщиною 0,5-0,8 мм; дебридмент із пластикою дефекту другим етапом (при неможливості виконати радикальну

хірургічну обробку, при ймовірності повторної некректомії); дебридмент із загоєнням рани вторинним натягом (при невеликому розмірі рани, коли терміни вторинного загоєння та терміни лікування із пластикою будуть однакові).

Необхідно відзначити, що проведення повноцінної хірургічної обробки неможливе за наявності м'якого некрозу та при облітеруючих захворюваннях артерій, тобто при зниженні кісточно-плечового індексу нижче 0,6. У цьому випадку першим етапом має виконуватися хірургічна ревазуляризація, у тому числі рентген-ендоваскулярна балонна ангіопластика. Тільки через 2-4 тижні можливе проведення некректомії.

Описана хірургічна некректомія «гострим» шляхом, тобто із застосуванням різучих хірургічних інструментів, виконується найчастіше, проте в ряді випадків здійснити таке втручання не є можливим (наявність м'якого некрозу, величезна площа рани, передлежання життєво важливих органів, незгода пацієнта, протипоказання посібником). У таких випадках використовуються альтернативні методи некректомії (фізична, біологічна, хімічна, ферментна, аутоліз).

Місцеве застосування протеолітичних ферментів, колагенази у вигляді мазей, імпрегнованих пов'язок диктує необхідність частих перев'язок, використання дорогих препаратів. Для повної некректомії потрібні високі концентрації ферментів. При цьому неприпустиме потрапляння останніх на здорові тканини. Потрібно відзначити малу доступність селективних протеаз при досить високій частоті розвитку контактного дерматиту та екземи. На практиці метод займає кілька днів і навіть тижнів [34].

До фізичних методів обробки відноситься ультразвукова кавітація, лазерна, плазмова некректомія, радіочастотна абляція, діатермо- та криодеструкція. Це сучасні способи обробки ран, що мають цілу низку очевидних переваг, але передбачають наявність високотехнологічного обладнання та підготовленого персоналу. Часто потрібне знеболювання, що обмежує застосування методів під час щоденної перев'язки [106, 172].

Yu.V. Ivanova, E.M. Klimova, I.A Krivoruchko et al. (2019) при лікуванні РТНЗ широко використовують оригінальну апаратуру власної конструкції – фототерапевтичні апарати серії «Барва» [111].

Хімічний дебридмент заснований на застосуванні мазей з некролітичним ефектом та частіше використовується щодо некрозів великої площі на поверхні ран, однак, для 20% саліцилової мазі існує обмеження максимальної площі застосування [144]. При антибіотико-резистентних до стафілококової флори успішно застосовують фаго-терапію [97].

Будь-яка РТНЗ є як мінімум контамінованою або поверхнево колонізованою. Критична колонізація або явна інфекція – два стани, що вимагають місцевого застосування засобів з антибактеріальними властивостями. Критична колонізація має дуже велике клінічне значення, оскільки сприяє уповільненню процесів репарації та призводить до хронізації рани [2].

Обговорюючи місцеві інфекційні ускладнення у хворих із РТНЗ, не можна не торкнутися питань біоплівки, які представляють спільноту мікроорганізмів різних видів, що живуть у тривимірному міжклітинному мукополісахаридному матриксі. Формування біоплівки за умов ранового дефекту сприяє розвитку хронічного запалення та уповільнює загоєння [62]. Слід зазначити, що формуванню біоплівки при цукровому діабеті сприяють імунодефіцит та ішемія, тому його слід розглядати як стан, що схиляє до формування біоплівки [59, 136].

Клінічними еквівалентами успішної елімінації біоплівки можна вважати активацію загоєння, зменшення рівня ексудації та ступеня утворення нальоту. Останнім часом велика увага приділяється топічному застосуванню продуктів, що містять срібло та цинк [45, 108]. Антимікробна дія срібла відома з античних часів, механізм його дії зводиться до руйнування клітинних мембран, інактивації бактеріальних ДНК та РНК, зв'язування та інактивації бактеріальних цитозольних білків [28, 64].

Контроль ексудації та підтримання вологого середовища в рані є основним моментом загоєння будь-якої хронічної рани. Революційним підходом у місцевій терапії РТНЗ вважається використання вакуумної терапії (VAC - vacuum-assisted closure) – одного із методів лікування, що сприяє покращенню результатів лікування [169]. В основі даної методики лежить застосування спеціальних губчастих пов'язок та вакуумного генератора, що дозволяє створити негативний тиск у рані, наслідком чого є видалення надлишків ексудату, зменшення бактеріальної обсімененості рани та стимуляція росту грануляційної тканини та епітелію [122]. До кінця XIX століття професор Август Бір визначив поняття купірування методом підпалу алкоголю всередині склянки та накладання на шкіру гумової трубки перед нанесенням підігрітого келиха. У 1908 р. описаний метод гіперемічного лікування Біра, і з тих пір вакуумна терапія застосовується для лікування всіх типів відкритих ран (травматичних, хронічних та післяопераційних), а також для лікування інфекцій.

Сучасна VAC-терапія була розроблена співробітниками медичного університету Вейк Форест (США) у 1990-х рр. і використовувалася для додаткової обробки ран та видалення ексудату з рани через герметичну пов'язку і спеціальну трубку, під'єднану до контейнера [6].

Слід підкреслити, що за оцінкою Всесвітньої організації охорони здоров'я, хірурги у всьому світі щорічно виконують понад 234 мільйонів великих операцій [101]. Загоєння ран протягом історії цивілізації не втратило свого медичного та соціального значення. Економічний та технологічний прогрес не гарантував того, що людину позбавлять як природних, так і техногенних факторів, здатних завдати серйозної шкоди в наш час. Крім того, ряд хронічних захворювань, що ускладнюються хронічними ранами, такі як цукровий діабет, хронічна судинна та неврологічна патологія, травми – мають значну тенденцію до зростання [68]. Ураження нижніх кінцівок трапляються у 30-80%, часто сприяють порушенню вуглеводного та інших видів обміну. Згідно з епідеміологічними дослідженнями, ампутації проводяться хворим на

цукровий діабет у 10-15 разів частіше, ніж у загальній популяції, що становить 50-70% усіх проведених оперативних утручань [82].

Патогенез утворення хронічних ран досі вивчений недостатньо, хоча вже багато відомо в цьому напрямку. Однією з основних його ланок є порушення кровопостачання тканин в результаті наступних основних причин: зменшення кровотоку та надходження кисню, шунтування крові, порушення венозного та лімфатичного відтоку, порушення обміну речовин, інфекційні та аутоімунні процеси та ін. Фізико-хімічні умови, в яких відбувається загоєння, мають велике значення для нормального відновлення тканин [14].

В багатьох дослідженнях було доведено, що використання VAC-терапії сприяє більш швидкому утворенню грануляційної тканини та при застосуванні методів аутодермопластики для закриття великих ран загальна виживаність трансплантатів значно вища у групі пацієнтів, які отримували VAC, ніж при традиційному лікуванні [36, 51]. Наприклад, у роботі А.М. Велігоцького та співавт. (2016) доведено, що після проведення ВАК-терапії площа ранової поверхні значно зменшується. Дослідження Г. Вінтера (1962) показали особливий вплив вологого середовища на самоочищення рани, проліферацію та міграцію епітеліальних клітин. Було встановлено, що при достатній кількості води у позаклітинному матриксі утворюється більш пухка волокниста тканина з подальшим утворенням менш грубого, але більш міцного рубця.

Аналіз різних публікацій показав, що дані про ефекти VAC можна розділити на наступні три групи: 1) Позаклітинний - коли спостерігається збільшення позаклітинного кровотоку та зменшення набряків, що позитивно впливає на навколишнє середовище рани; 2) Клітинний - коли відбувається утворення тканини для рануляції та синтез клітин; 3) Складний - коли організм здатний здійснювати ранові процеси, такі як загоєння, контроль інфекції та контроль ексудату [13].

Враховуючи позитивний вплив VAC-терапії на перебіг інфікованих процесів, цей метод став широко застосовуватися при лікуванні ран з

ускладненнями в різних ланках хірургії, наприклад при синдромі стопи діабетика [9]. Низка авторів відзначають клінічну та економічну ефективність методу при різних типах ран, в тому числі й при бойових пораненнях [30, 41]. Дійсно, рекомендований VAC, коли хірургічне лікування, реконструктивна хірургія або аутодермопластика під місцевою або загальною анестезією протипоказані [40]. Однак інші автори вказують на негативні аспекти VAC у деяких пацієнтів, такі як відчуття залежності від пристрою, знижена рухливість, порушення сну та біль при видаленні плівки або губки [75]. Таким чином, пропонується індивідуальний підхід до ведення пацієнта, а також додаткове навчання як для пацієнта, так і для персоналу [29]. Тим не менше, результати кількох мета-аналізів демонструють більш високу ефективність місцевої терапії негативного тиску порівняно з іншими методами лікування різних ран, особливо щодо профілактики раневих інфекцій, поліпшення перфузії тканин рани та укорочення періоду загоєння [10]. Метод може бути розроблений навіть і для амбулаторного використання із застосуванням переносних всмоктувальних пристроїв [31].

Однак, опублікованих робіт про застосування ВАК-терапії в лікуванні хворих із РТНЗ нижніх кінцівок вкрай мало та в них не до кінця сформовано практичні рекомендації і алгоритми використання методики ВАК-терапії при патології, що розглядається. Сукупність уявлень про сучасний стан питань лікування хворих із РТНЗ, аналіз літератури, власні клінічні спостереження, оцінка клінічних та економічних перспектив застосування методу локального негативного тиску доводять актуальність теми.

Невід'ємним компонентом лікування хворих на РТНЗ є місцева медикаментозна дія на рану. У I-II фазах ранового процесу основні патологічні зміни обумовлені інфекцією та некрозом. Застосування антисептичних розчинів спрямоване на ліквідацію інфекції та попередження вторинного інфікування [56].

В даний час оптимальними антисептиками, що завдають тканин пацієнта мінімальних збитків, є: 0,01% мірамистин, 1% повідон-йод, 0,02-0,05%

хлоргексидин, полігексанід, комбінація октенідину дигідрохлориду з феноксиетанолом [71]. Виразність запалення та характер ексудату визначають кратність обробки. Як правило, у III фазі ранового процесу відсутні показання для застосування антисептиків, за винятком обробки шкіри навколо рани з метою профілактики вторинного інфікування [58, 60].

Для підвищення лікувального ефекту перев'язувальний матеріал поєднують із мазями. Сучасні перев'язувальні матеріали повинні відповідати таким вимогам [42, 112]:

- зміна пов'язки повинна бути безболісною і атравматичною для епітелію, що росте, грануляцій та інтактної шкіри по краю рани;
- мати антибактеріальну дію;
- забезпечувати вологе середовище у рані;
- перешкоджати вторинному інфікуванню рани та контамінації довкілля;
- забезпечувати адекватне видалення ексудату у поєднанні із запобіганням надмірній мацерації країв рани;
- створювати ідеальний мікроклімат для загоєння рани (газообмін, термообмін, рН);
- мати можливість анатомічного моделювання, тобто адаптуватись до будь-якої поверхні;
- бути гіпоалергенними;
- не бути токсичними;
- - мати механічну міцність;
- не вимагати частої зміни пов'язки;
- бути економічно обґрунтованими у виробництві;
- не вимагати набуття додаткових навичок у персоналу;
- тривалий час зберігатися.

Безумовно, ранове покриття не замінює всього лікувального процесу, проте допомагає активізувати його, скоротити термін лікування, захистити від інфекції, змодельовати формування рубця. Існують різні підходи до вибору пов'язок. Практично найбільш зручний вибір пов'язки по фазах ранового процесу.

У сучасній реконструктивній хірургії застосовуються методи заміщення пошкоджених структур за допомогою біосумісних композитних матеріалів і препаратів [4]. Для виробництва біопластичних матеріалів використовуються біодеградовані полімери, відмінною особливістю яких є здатність до біодеградації та включення в метаболізм клітин продуктів розпаду: колаген, желатин, альгінати, хітозан та ін. [47, 61].

Широкого поширення набули колагеновмісні препарати, які у вигляді плівок, губок, порошоків, паст використовуються як самостійний фактор стимуляції регенерації тканин, так і в комбінації з різними лікарськими включеннями [27].

Відомі клітинні технології, спрямовані на стимуляцію регенераторних процесів - методики культивування кератиноцитів на колагеновому гелі, епідермальних клітин на культурі фібробластів, створення «живого еквівалента шкіри» та комбінованих субстратів (аллофібробласти на колагеновому гелевому матриксі) [34, 98, 133]; двошарової «штучної шкіри» - силіконової плівки та біодеградуючої мембрани з колагену та хондроїтин-6-сульфату; культивованих епідермальних аутотрансплантатів [133]; суспензій культивованих аутогенних кератиноцитів; алофібробластів на кремнійорганічній основі, а також продуктів на основі безклітинної алогенної дерми та ін. [49, 50].

Збільшенню швидкості репаративних процесів, у тому числі при лікуванні РТНЗ, сприяє використання дермального еквівалента, що є колагеновим гелем, що містить алогенні дермальні фібробласти людини [24, 35].

Також великі перспективи для оптимізації загоєння РТНЗ має використання культивованих аутогенних та алогенних фібробластів [141], що супроводжується вираженими репаративними процесами з підвищеною кількістю фібробластів, що проліферують [79, 153].

Слід зазначити, що на сучасному етапі по відношенню до РТНЗ застосовується така тактика [38]:

- усунення основної причини, що спричинила утворення трофічної виразки (якщо можливо) із використанням оптимальних антисептиків, але відмова від цитотоксичних засобів;
- хірургічна обробка – некректомія та адекватне дренивання із подальшим використанням сучасних перев'язувальних засобів відповідно до стадій ранового процесу з урахуванням слідування теорії вологого загоєння ран, а

також насичення рани необхідними речовинами за допомогою мазей та перев'язувального матеріалу;

- використання додаткових засобів, що стимулюють загоєння ран, у тому числі - ВАК-терапії, а при великих ранах – шкірна пластика.

Варто підкреслити, що основним методом відновлення шкірного покриву у випадках є шкірна пластика [32].

Таким чином, численні методи діагностики та терапії, що використовуються в даний час, дозволяють значно покращити результати місцевого лікування РТНЗ, проте вони не позбавлені численних недоліків.

У зв'язку з цим актуальною є розробка та впровадження нових підходів та сучасних способів діагностики патологічних змін та впливу на рановий процес з використанням сучасних розробок і технологій.

### **1.5 Сучасні методи репаративної регенерації і перспективи використання кріоконсервованої сироватки кордової крові в лікуванні, що тривало не загоюються**

Регенеративна медицина є новим етапом у еволюційному розвитку медичних технологій. Цей напрямок виник на стику безлічі наук і технологій, включаючи тканинну інженерію, клітинну біологію, молекулярну біологію, гістологію, біологію розвитку, біохімію, фізику, хімію, прикладну інженерію та інші дисципліни [52, 85]. У цьому сенсі регенеративну медицину можна по праву назвати міждисциплінарним видом науково-практичної діяльності, який використовує найсучасніші здобутки практично кожної наукової галузі. Цей напрям медичної науки заснований на реальній перспективі регенерації пошкоджених тканин та органів за допомогою використання терапії живими клітинами, за допомогою відновлювальних технологій та підходів, що індукують процеси самозагоєння [48].

**Використання сучасних кріометодів в лікуванні РТНЗ.** Цілющі властивості холоду протягом багатьох століть використовували для лікування різних захворювань, знеболювання, загартування. В останні десятиліття зріс

інтерес до кріотерапії: вивчено вплив холоду на різні системи організму, розкрито механізм адаптації людини до його дії, з'явилися нові технічні можливості генерації холоду та сучасні кріоносії. Кріотерапія отримала визнання і поширення в різних галузях медицини [143].

Вплив холодом за допомогою загальної кріотерапії складає весь організм одночасно, що призводить до активації всіх адаптаційних ресурсів [157, 172].

При локальній кріотерапії передбачається фізіотерапевтичний вплив на конкретну ділянку тіла для відведення від нього тепла твердими, рідкими або газоподібними холодоагентами, забезпечення місцевого ефекту без активної внутрішньої реакції всього організму. Основні ефекти локальної кріотерапії: зменшення набряку, запалення, ліквідація м'язового спазму, зняття болю, а також гемостатичне (за рахунок звуження дрібних капілярів та артеріол шкіри, уповільнення швидкості кровотоку), антигіпоксична (уповільнення обмінних процесів, зниження споживання кисню) [145, 159].

При регенеративній кріотерапії відбувається реакція організму, пов'язана з місцевим подразненням тканини, усуненням хвороботворної причини, регенерацією тканини та відновленням її функцій. Сучасна кріохірургія є щадним та економним методом ліквідації патологічних тканин у рані, внаслідок чого багато фахівців вважають її найбільш досконалою хірургічною технологією в лікуванні РТНЗ [166].

Кріотерапія практично не має ускладнень, а глибокі фізіологічні та імунологічні основи ефективності даного методу у багатьох ситуаціях зумовлюють його переваги над традиційними прийомами лікування [158].

Слід особливо наголосити, що характерною рисою всіх методів медичної кріотерапії є успішне поєднання застосування холоду практично з усіма іншими методами фізичного та медикаментозного лікування.

**Перспективи використання кріоконсервованої сироватки кордової крові в лікуванні, що тривало не загоюються.** При проведенні регенераторної терапії пацієнт отримує збалансований «коктейль» з ряду біологічно активних речовин (БАР) природного походження, що мають

різноспрямовану фармакологічну дію і здатні впливати на різні сторони метаболізму цілісного організму, і клітин, які здатні виконувати замісні функції. Тобто, терапевтичні ефекти від клітинної терапії можна пояснити їхньою прямою замісною дією та/або з високим вмістом у клітинних препаратах БАР, що вводяться. Останні, ймовірно, можуть чинити як специфічний вплив на орган, тропністю до якого вони мають, так і неспецифічний стимулюючий вплив на інші органи та системи, покращуючи тим самим загальний стан організму і створюючи сприятливий фон для протікання процесів саногенезу [37].

Незважаючи на безумовний прогрес у розробці нових та вдосконаленні існуючих методів лікування ран, перспектива скорочення термінів загоєння та покращення результатів лікування ран залишається вкрай актуальною. На сьогоднішній день, із усіх засобів регенеративної медицини в системному лікуванні ран застосовується лише специфічна (вакцини, сироватки, анатоксини) та неспецифічна імунокоригуюча терапія. Тому, багатий арсенал засобів регенеративної медицини в лікуванні РТНЗ практично не потрібний [118].

Причина хронізації будь-якого запального процесу в організмі людини є наслідком неспроможності імунної системи – ІС пацієнта. Встановлено чіткі корелятивні зв'язки інтенсивності імунної відповіді організму та ступеня прояву різних видів інфекційних процесів. Стимуляція структурно-функціонального стану ІС пацієнтів з ранами, що тривало не загоюються, є важливою для успішного лікування цієї патології. Перспективи позитивного вирішення цього питання з'явилися у зв'язку зі введенням у медичну практику кріоконсервованих препаратів фетоплацентарного комплексу – ФПК [105, 146].

В останнє десятиліття в руслі регенеративної медицини інтенсивно розвивається новий напрямок - застосування біопрепаратів із тканин та клітин ФПК в неврології, щелепно-ліцевої хірургії [1, 44, 162]. Тканини ФПК містять велику кількість різних активаторів регенерації та диференціювання: фактор

росту фібробластів, фактор росту нервових волокон, фактор, що стимулює зростання макрофагальних та еритроїдних колоній, а також антипроліферативні цитокіни, що запобігають клітинній та системній гіперстимуляції. Крім того, у них містяться стадіоспецифічні білки та пептиди, у тому числі, антиоксиданти та пептиди, що стимулюють імунокомпетентні клітини [16, 132]. Зустрічаються поодинокі ссилки на лікування клітинами кордової крові в експерименті та хворих з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок [21, 22].

Таким чином, клітини та тканини ФПК є потенційним джерелом різних речовин, що стимулюють регенерацію тканини реципієнта. Ці речовини є потужними регуляторами, які безпосередньо чи опосередковано впливають на власні клітини організму реципієнта, корегують їх функціональний стан та взаємодію, що сприяє відновленню їх нормальної життєдіяльності. Оскільки позитивний вплив клітинної терапії реалізується, у тому числі, за рахунок комплексу БАР, які привносяться разом з клітинним матеріалом, а так само виробляються донорськими клітинами в процесі їх переживання в організмі реципієнта, закономірний стабільно високий інтерес до безклітинних стимуляторів регенеративно-пластичних процесів [114, 129, 147].

У зв'язку з вищесказаним, як одне з перспективних джерел терапевтичних агентів для регенеративної медицини можна назвати плацентарну кріоконсервовану сироватку кордової крові (КСКК). Її унікальний склад та властивості забезпечують стабільно високий інтерес як з боку вчених, так і з боку лікарів, що практикують [17].

У складі КСКК знаходяться різні цито-і хемокіни, широка палітра колонієстимулюючих факторів і факторів росту, різні розчинні рецептори, гормони, матриксні металопротеїнази органічні сполуки, що беруть участь у метаболізмі ліпідів білки, що пов'язують інсуліноподібні фактори росту вітаміни, електроліти та мікроелементи тощо [18, 37].

Важливо підкреслити, що це компоненти перебувають у сироватці кордової крові у природному, фізіологічно збалансованому співвідношенні.

Крім того, БАР присутні у сироватці кордової крові, ймовірно, знаходяться в оптимальному для прояву їх біологічних ефектів біохімічному оточенні.

При розгляді можливості широкого впровадження якогось лікувального агента істотне значення мають питання його отримання, зберігання та доставки до лікувального закладу. Одержання сироватки кордової крові - неінвазивна та відносно проста процедура, яка не потребує великих матеріальних витрат. При цьому слід особливо підкреслити, що розробка технології отримання цього матеріалу, ефективного кріоконсервування та ліофілізації, обґрунтування клінічного застосування належить Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної Академії Наук України - ІПКіК НАНУ [39, 119].

Реалізація лікувального ефекту КСКК обумовлена наявністю в ній різного виду клітин (мезенхімальні - МСК і кровотворні стовбурові клітини - КСК), а також і БАР присутніх в плазмі КСКК. В даний час, у зв'язку з питаннями, пов'язаними з аспектами трансплантації клітин, тканин і органів, особливу увагу для клініцистів з точки зору застосування як лікувального матеріалу представляє саме КСКК [93]. Присутність в неї різного виду ростових факторів, гормонів, вітамінів, інтерлейкінів, мікроелементів і т.д. обумовлює і робить її потенційно здатною виявляти імуномодулюючу, гемостимулюючу, протизапальну, антибактеріальну, адаптогенну активність. Широкий спектр потенціалу КСКК, обумовлений і наявністю в ній таких біологічно активних субстанцій, як гормони аденогіпофіза (соматотропін, адренокортикотропін, пролактин,  $\beta$ -пролактин, тіреотропін і ін.), кори надниркових залоз (кортизол), паращитовидної залози (паратирин), щитовидної залози (тироксин, трийодтиронін, кальцитонін), підшлункової залози (імунорективний інсулін) [83]. У зв'язку з розповсюдженням пандемічної ситуації COVID-19 суттєвим є встановлений факт противірусної активності КСКК, що пов'язують з присутністю в ній кацеліцидінов (LL37) – природних антимікробних пептидів системи неспецифічного вродженого імунітету [65]. Тож кріоконсервована сироватка кордової крові («Гемокорд -

Кріоцел») представляє собою збагачену суміш імунорегуляторних факторів, які формують функцію імунокомпетентних клітин.

В даний час можна завдяки кріоконсервуванню створювати запаси КСКК і зберігати їх протягом тривалого часу. Потенційна можливість мати суттєвий часовий інтервал між отриманням та застосуванням КСКК є вкрай важливою, оскільки дозволяє проводити повноцінне тестування матеріалу на предмет біологічної безпеки, а також дає можливість завчасно доставляти необхідну кількість такої сироватки до лікувальних закладів [43].

Також слід зазначити, що враховуючи вже відомий терапевтичний потенціал сироватки кордової крові, застосування КСКК може виявитися реальним способом впливу на рановий процес і слід розглядати як перспективний препарат й «золотий стандарт» для включення в протоколи регенеративної медицини при лікуванні ранових дефектів, особливо у хворих із РТНЗ [79, 161].

Таким чином, така здатність КСКК в умовах сумісного використання з VAC-терапією є абсолютно інноваційним напрямком підвищення ефективності лікування ран різного генезу, що тривало не загоюються.

**Резюме до огляду літератури.** Аналіз літературних даних, присвячений розгляду сучасного стану питань різноманітних методів лікування хворих із РТНЗ, показавши наступне:

- По-перше, ряд важливих питань залишається не до кінця розкритою, відсутні чіткі методичні підходи в залежності від розмірів, ступенів інфікованості та локалізації РТНЗ, що відзеркалюється на протилежності існуючих публікацій щодо вірогідності та ефективності методів їх лікування та диктує необхідність їх подальшого опрацювання ;

- по-друге, при великому кількості описів різноманітних методів діагностики та хірургічного лікування хворих цього контингенту в літературі відсутні відомості про об'єктивні бальні критерії, що дозволяють з достатньою ймовірністю визначити прогнозування ускладнень РТНЗ у ранні терміни їх формування;

- по-третє, у літературі недостатньо висвітлені питання сучасної хірургічної тактики при РТНЗ щодо визначення оптимальних термінів виконання мініінвазивних оперативних втручання при РТНЗ з використанням сучасних кріотехнологій, а також їх обсягів та специфіки у пацієнтів даного профілю;

Розробка комплексної лікувальної технології, спрямованої на удосконалення лікувальної тактики шляхом використання сучасних методів хірургічного лікування, зокрема з використанням сучасних кріотехнологій та індивідуалізованого підходу до вибору методу, обсягу та термінів лікувальних заходів є актуальним завданням.

У літературі, що присвячена даним аспектам, ці питання відображені, на нашу думку, недостатньо повно, що стало приводом для проведення наступного дослідження.

## РОЗДІЛ 2

### ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ: МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Загальна характеристика груп хворих

Під нашим спостереженням перебувало 107 хворих із ранами, що тривало не загоюються (РТНЗ), які знаходилися на стаціонарному лікуванні у хірургічному відділенні КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня» з 2020 по 2024 рр. Було обстежено 21 (19,58 %) чоловіків та 86 (80,41 %) жінок, віком 21-70 років. Найбільша кількість хворих із РТНЗ відзначалася у віковій групі 31-50 лет.

Анамнестичні дані включали відомості про давність і причини захворювання, проведене раніше лікування, дані про попередні і супутні захворювання. Особливу увагу при зборі анамнезу приділяли тривалості перебігу і поширеності процесу, наявності супутньої патології. Також при огляді пацієнтів проводили фотозйомку осередків ураження в ділянці РТНЗ. Були досліджені загальний і біохімічний аналіз крові, а також імунологічні показники.

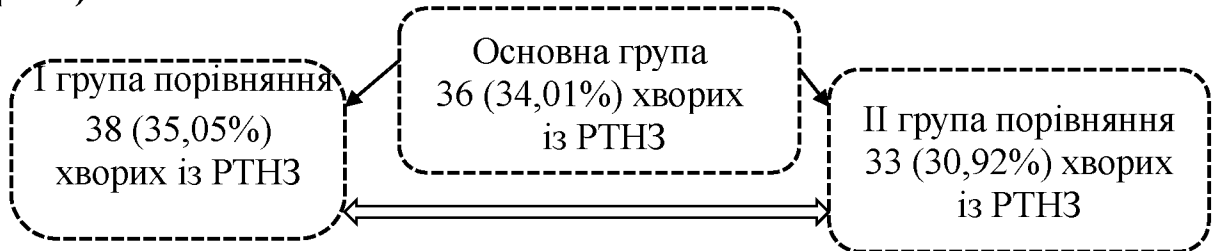
Слід зазначити, що у контексті різноманіття існуючих визначень і класифікацій ми розглядаємо розвиток й формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції, як фазний патологічний процес, що поступово розвивається при РТНЗ, в основі якого лежать порушення гомеостазу, загальних і місцевих адаптаційних процесів, підкріплення яких досягається проведенням адекватного комплексу хірургічного лікування.

Для досягнення поставлених мети та завдань проведено клінічне дослідження, дизайн якого представлено на рис. 2.1.

### І етап. Аналітичний

- Огляд літератури, виявлення невирішених питань діагностики і лікування хворих на РТНЗ
  - Постановка мети і завдань дослідження
- Визначення критеріїв включення, не включення та виключення

**ІІ етап. Клінічний (ретроспективне й проспективне дослідження використаних методів діагностики та клінічної ефективності обраної терапії)**



Порівняльна оцінка результатів діагностики та лікування

- Ретроспективне дослідження діагностичної значущості клініко-лабораторних методів;
- вивчення імунологічних змін у хворих досліджуваних груп
- Порівняльний аналіз результатів

- Розробка і впровадження в клініці способу лікування хворих із РТНЗ з використанням препарату «Гемокорд-Кріоцелл» і методу ВАК-терапії у хворих із РТНЗ;
- Розробка і впровадження способу оцінки ефективності лікування хворих із РТНЗ

Проспективне дослідження клінічної значущості сучасних методів лікування з використанням препарату «Гемокорд-Кріоцелл» і

- Проспективне дослідження діагностичної значущості клініко-лабораторних методів діагностики активності біомаркерів
  - Розробка і впровадження шкали градацій ймовірності і прогнозу клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та

Розробка комбінованого способу лікування хворих із РТНЗ за представленою схемою та прогноз клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції

Порівняльний аналіз результатів комплексного лікування хворих із РТНЗ

**ІІІ етап. Формування остаточного варіанту роботи - обговорення результатів дослідження, висновків та рекомендацій**

Рис. 2.1 Дизайн дослідження

**Критеріями включення** в дослідження стали: наявність РТНЗ у хворих із встановленим діагнозом, тобто, як типова картина захворювання в стадії запалення, так й відсутність ознак активності процесу, вік від 25 до 70 років, отримання інформованої згоди пацієнта.

**Критеріями невключення** були: наявність злоякісних новоутворень і передракових захворювань шкіри й внутрішніх органів в анамнезі та на момент огляду, супутні захворювання, включно психічні, в стадії загострення, хронічна ниркова й печінкова недостатність, цироз печінки, підвищення рівня печінкових трансаміназ більш ніж вдвічі від нормальних значень, вагітність й період лактації, а також протипоказання до призначення препаратів, що входять до схем лікування.

**Критерії виключення** пацієнта з дослідження (що планувалося використовувати): прояви небажаних явищ, що пов'язані із терапією або невиконанням режиму призначеної схеми терапії, але хворих виключених із дослідження у зв'язку з небажаними явищами, пов'язаними із розробленою схемою комплексної терапії, не було.

Слід зазначити, що базисна терапія передбачала застосування антибактеріальних, антифіброзних, дезінтоксикаційних, вазоактивних, нестероїдних протизапальних препаратів, гепатопротекторів, вітамінів за стандартними методиками. Місцево накладали топічні протизапальні, розсмоктуючі засоби. Також в лікуванні хворих на РТНЗ використовували фізіотерапевтичні методи. З метою вивчення ефективності комбінованого використання традиційної базисної терапії і нових схем лікування усіх пацієнтів було розподілено на 3 зіставні за всіма параметрами групи випадковим чином. Групи довільно формувалися з хворих, що відповідали критеріям включення.

Так, до I групи порівняння було включено 38 (35, 05 %) пацієнтів із РТНЗ, які отримали базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію та місцеве використання 0,02% розчину Декасана.

У II групу порівняння увійшли 33 (30,92 %) хворих із РТНЗ, за схемою, що включала базисне лікування: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана із додаванням препарату «Гемокорд-Кріоцелл» на протязі 7 діб.

В основну групу увійшли 36 (34,01 %) хворих із РТНЗ, що отримали комплексне лікування за схемою, методику якої було розроблено у клініці: базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана, із лікуванням медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» на протязі 7 діб, а також додатково сеанси VАС-терапії на протязі 5 діб.

Для проведення порівняльного аналізу та отримання більш достовірних результатів дослідження додатково було введено контрольну групу, що складалася з 25 умовно-здорових обстежених добровольців, мешканців Харківського регіону.

Групи пацієнтів були репрезентативні за статтю, віком, вихідним клінічним-лабораторним показникам.

Базисне лікування передбачало застосування антифіброзних, дезінтоксикаційних, вазоактивних, нестероїдних протизапальних препаратів, гепатопротекторів, вітамінів за стандартними методиками. Місцево накладали топічні протизапальні, розсмоктуючі засоби. Також в лікуванні хворих із РТНЗ використовували фізіотерапевтичні методи.

У табл. 21 наведено лані про характер супутньої патології у хворих із РТНЗ.

Таблиця 2.1

**Характер супутніх захворювань у хворих із РТНЗ**

| Супутня патологія                      | Кількість | %     |
|--|-----------|-------|
| Захворювання серцево-судинної системи  | 32        | 32,32 |
| Захворювання шлунково-кишкового тракту | 23        | 23,23 |
| Захворювання нервової системи          | 8         | 8,08  |
| Захворювання дихальної системи         | 7         | 7,07  |
| Захворювання сечо-статевої системи     | 9         | 9,09  |
| Захворювання опорно-рухового апарату   | 9         | 9,09  |
| Ендокринні захворювання                | 11        | 11,11 |

*Примітка:* кількість нозологічних форм може перевищувати число хворих на РТНЗ, оскільки у одного пацієнта зазначалося кілька супутніх захворювань

Як видно з табл. 2.1, серед захворювань серцево-судинної системи - 32 (32,32%) випадків переважали гіпертонічна хвороба і ІХС. На другому місці, за частотою народження були захворювання ШКТ 23 (23, 23 %) пацієнтів із хронічним гастритом, хронічним холециститом, віразковою хвороби шлунку та 12-ти палої кишки, діскінезією желчевідних шляхів. Серед осередків хронічної інфекції організму хворого за частотою превалювали хронічний тонзиліт, хронічний гайморит (синусит), хронічний пієлонефрит. У 14 (26,41%) жінок відзначалися різні гінекологічні захворювання – дисфункція яєчників з порушенням менструального циклу, ерозія шийки матки, фіброзно-кістозна мастопатія, в групі з ендокринологічними порушеннями діагностовано цукровий діабет, ожиріння, аутоімунний тиреоїдит.

Тривалість захворювання у пацієнтів, включених у дослідження, на момент первинного звернення становила від 3 місяців до 5 років (в середньому -  $2,6 \pm 0,5$  року). Найбільш часто початок захворювання у пацієнтів із РТНЗ припадав на вік 46-60 років, при цьому середній вік склав  $48,24 \pm 2,94$  роки. Більшість спостережуваних нами пацієнтів (59,81 %) мали початкові прояви ранового процесу з великою тривалістю захворювання (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

**Розподіл хворих у відповідності до давності захворювання**

| Давність захворювання | Кількість пацієнтів |       |
|-----------------------|---------------------|-------|
|                       | Абс.                | %     |
| до 6 місяців          | 9                   | 8,41  |
| 6 місяців – 1 рік     | 34                  | 31,78 |
| 1-5 років             | 64                  | 59,81 |

Таким чином, при вивченні клінічних проявів у хворих із РТНЗ виявлено високу частоту захворювання серед осіб працездатного віку (83 пацієнтів – 77,31 %), значне переважання (в 4,1 рази) жінок серед обстежених хворих. Початок захворювання в середньому відбувався у віці 46-60 років, при цьому середній вік складав  $48,24 \pm 2,94$  роки. Найчисельнішу групу склали 64 (60%) хворих із тривалістю захворювання на момент обстеження від 6 місяців до 1 року.

Супутню патологію мали майже всі пацієнти, найчастіше діагностувалися захворювання серцево-судинної системи та хвороби шлунково-кишкового тракту, у 22 хворих визначено поєднану патологію.

Таким чином, дані анамнезу, клінічної картини хворих із РТНЗ, спонукають фахівців до вивчення клінічних особливостей і вдосконалення сучасних методів комплексної терапії вже на початкових етапах захворювання з метою попередження розвитку подальшого тяжкого ранового процесу, а також профілактиці інвалідизації пацієнтів.

Усім хворим до- та після лікування проводили загальні аналізи крові та сечі, біохімічний аналіз крові з вивченням показників білкового та вуглеводного обмінів, функціонального стану печінки й нирок. Матеріалом для дослідження була капілярна та венозна кров, забір якої проводився натще та ранкова сеча.

## **2.2. Методи клініко-лабораторного та інструментального дослідження**

**Методи дослідження периферичної крові.** Клінічні дослідження крові та сечі проводилися за уніфікованими методами. Оцінку одержаних лабораторних досліджень проводили згідно Міжнародної системи одиниць.

Біохімічні дослідження проводилися на базі кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету.

**Біохімічні методи.** Біохімічне обстеження проводилося всім 107 спостереженим хворим із РТНЗ, а також 25 умовно-здоровим особам, мешканцям Харківського регіону, які були репрезентативні за віком і статтю.

**Метод визначення концентрації пептидів середньої молекулярної маси.** Сироватку (плазму) обробляли розчином ТХУ, надосадову рідину звільняли від грубодисперсних білків, після попереднього розведення дистильованою водою детекцію здійснювали за допомогою спектрофотометрії. За величиною оптичної щільності судили про зміст пептидів середньої молекулярної маси. Оптичну щільність зразків вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при  $\lambda = 254$  нм (дейтерієва лампа) відносно дистильованої води. Референтні величини: рівень пептидів середньої молекулярної маси 0,180 – 0,250 од. Е.

**Визначення співвідношення білкових фракцій сироватки крові методом електрофорезу на ацетат-целюлозних мембранах.**

Визначення співвідношення білкових фракцій сироватки крові здійснювали методом електрофореза на ацетатцелюлозних мембранах на приборі ЕФ-1 с наступним їх фарбуванням та аналізом на аналізаторі фореграм типа АФ-1 (рис. 2.2).

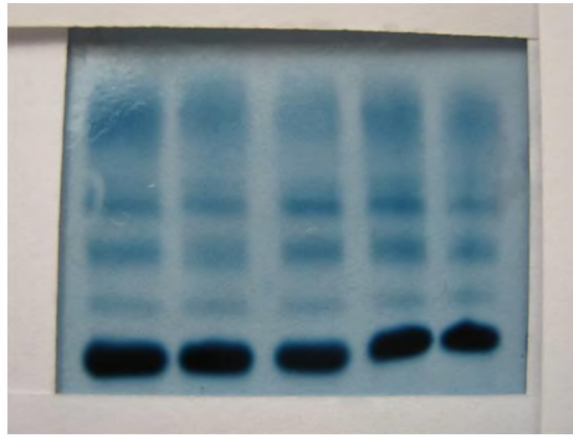


Рис. 2.2 Электрофореграма білків сироватки крові на ацетатцелюлозній мембрані

**Метод визначення концентрації С-реактивного білка.** Дослідження концентрації С-реактивного білка (СРБ) проводили кількісним методом імуно-турбодиметрії за О. П. Шевченко (1997).

**Метод визначення концентрації магнія і хлора у сироватці крові.** Визначення магнія і хлора сироватки крові – за допомогою колориметричного аналізу за А. Ш. Бышевскому, О. А. Терсенову, 1994.

**Метод визначення загальних ліпідів у сироватці крові.** Визначення загальних ліпідів проводили за В. Н. Титовим, М. Г. Твороговою (1992); ліпопротеїдів високої щільності, тригліцеридів, бета-ліпопротеїдів – за С. Е. Севериним (1977); концентрацію холестерина – за D. Vaidya (2005); коефіцієнт атерогенності розраховували за формулою:  $КА = (\text{загальний ХС} - \text{ЛПВП})/\text{ЛПВП}$ .

**Глікозаміноглікани (ГАГ) и сумарні глікозаміноглікани (кислі мукополісахариди)** визначали у сироватці крові з використанням трихлоруксусної кислоти та відомої карбозольної реакції, яка забезпечує фіолетово-рожеве забарвлення. Фотометрія досліджуваних зразків проб здійснювали при  $\lambda=530$  нм. Вміст ГАГ у сироватці крові визначали через гексуранові кислоти в мікромолях/л. (мкмоль/л) – за методикою П.Н. Шараєва та співавт. (1989).

**Оцінку колагенолітичної активності (КЛА) плазми крові здійснювали** за сумарною кількістю (при ферментативному гідролізі) вільного і пептидно-пов'язаного оксипроліна в діагностичній пробі. Для цього знаходили по калібрувальній кривій відповідне оптичній щільності значення кількості оксипроліну при  $\lambda = 570$ мкм. Величину КЛА плазми крові виражали в мікромолі оксипроліна на 1л плазми крові за 1 годину (мкмоль/л•ч) –за П.Н. Шараєвим (2009).

**Еластаза у сироватці крові** досліджувалася за допомогою імуноферментного методу І.П. Гонтаря зі співавт. (2012) з використанням моноклональних антитіл і набору реактивів Human PMN Elastase Elisa RD 191021100) по інструкції фірми «Biovendor» (Германия).

Імуноферментні дослідження виконували на базі діагностичної лабораторії молекулярних і клітинних технологій з імуноферментним і імунофлюоресцентним аналізом ДУ «ІЗНХ ім. В.Т. Зайцева НАМН України, где с помощью современного микроскопа Olympus BX-i53 (Япония) и программного обеспечения при флуоресценции получали имиджи в цветном режиме.

**Імуноферментні дослідження. Метод визначення фагоцитуючої активності гранулоцитарних нейтрофілів.** Фагоцитарну активність гранулоцитарних нейтрофілів визначали в лейкоцитарної суспензії, отриманій з гепаринизованої крові. Для досліджень змішували рівні об'єми лейкоцитарної суспензії і відмитої суспензії пекарських дріжджів. Отримані зразки інкубували 60 хвилин при 37°C, періодично помішуючи. Після інкубації готувалися мазки, які фарбували барвником Романовського. Мікроскопування проводили під імерсійною системою. Шляхом підрахунку відсотка клітин, що вступили в фагоцитоз, розраховували фагоцитарний індекс. Середнє число дріжджових клітин, що знаходяться в нейтрофілах крові складало фагоцитарне число:

$$\text{ФЧ} = N_{\text{др.}} / N_{\text{фаг.}},$$

де  $N_{\text{др.}}$  - кількість поглинутих дріжджових клітин;

$N_{\text{фаг.}}$  - кількість клітин, що вступили у фагоцитоз.

**Метод визначення вмісту сироваткових імуноглобулінів (Ig) класів А, М і G.** Визначення вмісту сироваткових імуноглобулінів класів А, М і G здійснювали спектрофотометрично на автоматичному імуноферментному аналізаторі STAT FAX 3200 (США). Для визначення концентрації використовували стандартний набір моноспецифічних антисироваток до імуноглобулінів і контрольну сироватку з відомим вмістом імуноглобулінів (г/л). Зразки, контрольну сироватку і антисироватки вносили в лунки планшета і додавали 7% розчин ПЕГ 6 000 на фосфатному буфері (рН 7,4-7,5). Проби інкубували 60 хвилин при кімнатній температурі. Оптичну щільність вимірювали в біхроматичному режимі при  $\lambda_1=405$  нм і  $\lambda_2=570$  нм проти холостої проби (без сироватки крові). Концентрацію сироваткових імуноглобулінів розраховували за калібрувальними графіками, побудованими для кожного класу імуноглобулінів (Н. Б. Гамалея., К. А. Мондрус (1994).

**Вивчення вмісту в периферичній крові цитокінів - фактора некрозу пухлини- $\alpha$  (ФНП $\alpha$ ), інтерлейкінів (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6)** проводилося із застосуванням твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) - за Р.М. Хаїтовим та співавт. (2010).

**Метод визначення вмісту аутоіmunних антитіл (тест на лімфоцитотоксичність).** Визначення вмісту аутоіmunних антитіл проводили за тестом на лімфоцитотоксичність (класичний метод Терасакі). Для проведення тесту використовували лейкоцитарну суспензію, яку готували з гепаринізованої крові, як описано раніше, і інкубували з гомологічною сироваткою крові при 37°C протягом 30 хвилин. Для утворення комплексу антиген-комплемент-антитіло по краплях вносили фермент. Після інкубації при 37°C протягом 15 хвилин до суспензії додавали барвник еозин, фарбуючи клітини з пошкодженої отриманим комплексом клітинною мембраною. Препарати фарбували метиленовим синім, інкубували 30 хвилин при 37°C і підраховували кількість живих і мертвих клітин за диференційним фарбуванням еозином. Про рівень аутоіmunних антитіл судили за відсотковим

співвідношенням живих і мертвих клітин. Референтні величини відповідають 10-30% вмісту аутоімунних антитіл – за А.В. Карауловим (1999).

**Метод визначення концентрації ЦК.** Вміст ЦК в сироватці крові оцінювали спектрофотометрично після інкубації зразків в боратному буфері і поліетиленгліколь при кімнатній температурі. При інкубації відбувалася преципітація ЦК на ПЕГ, що позначалося на зміні оптичної щільності зразків. Вимірювання оптичної щільності проводилося спектрофотометрично на СФ-46 (Росія, Ломо) при довжині хвилі  $\lambda = 450$  нм проти боратного буфера. Референтні величини: концентрація ЦК 50-100 од. Е (Ю. А. Гриневич (1989).

Рівень ЦК у сироватці крові визначали методом преципітації в розчині поліетиленгліколя із ММ 6000 дальтон за Digeon et al. у модифікації В.М. Фролова і співавт. (1986). Молекулярний склад ЦК з виділенням фракцій багато- (>19S), середньо- (11S-19S) і дрібномолекулярних (<11S) комплексів визначали шляхом диференційованої преципітації в 2%, 3,5% і 6% розчинах ПЕГ.

**Метод визначення константи ЦК.** Принцип методу визначення константи ЦК, заснований на селективній преципітації ЦК в градієнті щільності ПЕГ. Проби після внесення різної кількості (1,5 мл і 2,0 мл) 5% розчину ПЕГ 6 000 (проба 1 і проба 2 відповідно) інкубували 18 годин при 4° С для утворення імунних комплексів. Після центрифугування при 2 200 об / хв протягом 17 хвилин відділяли надосадову рідину. Супернатант розводили 0,1 N гідроксидом натрію і спектрофотометрично визначали оптичну щільність при довжині хвилі  $\lambda = 280$  нм проти гідроксиду натрію. Константу ЦК розраховували за формулою:  $\text{ЦК } k = D_2 / D_1$ , де  $D_1$  – оптична щільність в пробі 1;  $D_2$  – оптична щільність в пробі 2. Референтні величини: константа ЦК 1,1-1,5 – за Н.А. Константиною (1986).

**Метод визначення рівня субпопуляцій лімфоцитів CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> за допомогою МКАТ.** Принцип методу полягає в специфічному зв'язуванні моноклональних антитіл (МКАТ), мічених ФІТС, з відповідними поверхневими антигенами імунокомпетентних клітин. За допомогою

люмінесцентного мікроскопа відбувався підрахунок клітин, мічених флуоресцентним барвником FITC (використовували набір специфічних МКАТ, Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України).

**Імуноферментний метод визначення антитіл до ДНК (нативної, денатурованої).**



Рис. 2.3 Стриповий планшет з іммобілізованими антитілами, які взаємодіють з різними концентраціями сироваткових органоспецифічних антитіл

Принцип методу заснований на виявленні в сироватці крові антитіл, специфічних до антигену, адсорбованому на твердій фазі. Антитіла, які приєдналися до твердої фази, визначають за допомогою специфічного антиглобулінового кон'югату анти-Ig G (третій шар імунного комплексу). Активність ферменту в складі імунного комплексу визначають за допомогою субстрат-хромогенної суміші. Інтенсивність забарвлення хромогену прямо пропорційна концентрації антитіл в зразку і визначалася спектрофотометрично на автоматичному імуноферментному аналізаторі STATFAX 3200 (США) при довжині хвилі  $\lambda = 450$  нм. Референтні величини: проба вважається позитивною при величині індексу реакції  $IP > 1,0$ . При  $IP \leq 1,0$  проба вважається негативною. Збільшення титру органоспецифічних антитіл змінює забарвлення і оптичну щільність розчину в осередку

**Метод скринінгу наявності аутоімунних антитіл на специфічних скринінгових чіпових панелях з іммобілізованими субстратами різних клітин.** Антиядерні аутоантитіла (ANA) визначали за допомогою імунофлуоресценції. Скринінговий метод аналізу є дуже точним і специфічним напівкількісним методом. Використовували скельця з

біочіповими реакційними зонами, поверхня яких покрита субстратом: HEP-2 (епітеліальні клітини раку гортані людини) та зрізи печінки приматів (набір реактивів EUROIMMUN, Німеччина).

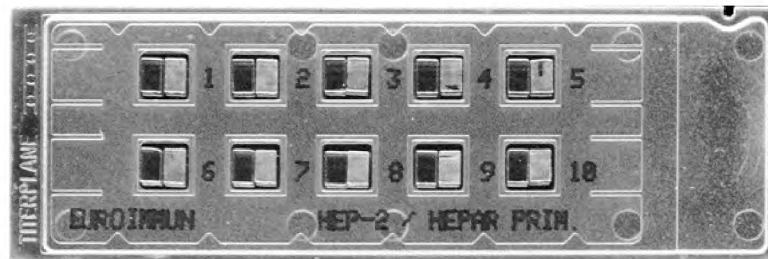


Рис. 2.4 Скляний слайд з чіповими осередками, які містять панель мозаїчних клітинних субстратів, що зв'язують специфічні антитіла (АТ) до клітинних органоїдів різних тканин: поперечно-смугастих міофібрил, тканин тимуса, нейтрофілів

Скло інкубували на першій стадії реакції із зразками розведеної сироватки крові пацієнтів. Наявні в позитивних зразках специфічні антитіла класів IgA, IgG і IgM зв'язуються з антигенами біочіпів. На другій стадії антитіла, що зв'язалися, виявляли флуоресцентним забарвленням, яке відбувається в результаті інкубації скла з міченими флуоресцеїном (FITC) антитілами до відповідних імуноглобулінів людини. Специфічність світіння оцінювали за допомогою мікроскопа Olympus BX53 зі збільшенням x400.

Вибір методів дослідження або їхньої черговості залежав від конкретної клінічної ситуації: за наявності вогнища інфекції в першу чергу виконували мікробіологічне дослідження ексудату, що відокремлюється з рани або нориці, зіскрібок тканини вогнища/рани – для уточнення етіології процесу. При невідповідності площі та глибини, вогнища ураження, вираженості процесу чи нетиповому осередку – зазначені способи дослідження обов'язково доповнювали гістологічним дослідженням тканини вогнища - біопсією.

Для об'єктивного вивчення характеру запального процесу здійснювали якісне та кількісне (в 1 г тканини рани) визначення мікрофлори гнійних осередків за методикою С. Вахтер та співавт. (1973) та Є. Laeble та співавт.

(1974) у модифікації І.І. Колкера та співавт. (1980) з дослідженням її чутливості до антибактеріальних препаратів за загальноприйнятими методами, а також посіви крові, матеріалу отриманого при діагностичних пункціях або біопсії тканин патологічного вогнища. Бактеріологічний контроль здійснювали шляхом проведення якісної оцінки бактеріологічних посівів раневого відокремлюваного в 1-2 добу ранового процесу і на 7-8 добу.

Цитологічний контроль ранового процесу здійснювався шляхом дослідження мазків-відбитків методом М.В. Покровський, М.С. Макарова у модифікації Д.М. Штейнберга, що виробляється на 2-ю, 4-ту, 6-ту, 8-ту, 10-ту, 12-ту, 14-ту, 16-ту добу ранового процесу. Цитологічне дослідження зіскрібка, відбитків з поверхні РТНЗ, гнійного відокремлюваного виконували за загальноприйнятою методикою (забарвлення гематоксилін-зозином, азур-зозином, за Романовським-Гімза та в прискореній модифікації Алексєєва Н.Г. Вивчали морфологічні зміни у біоптатах РТНЗ, взятих із вогнища інфекції та на кордоні зі здоровими тканинами. Гістологічні зрізи забарвлювалися гематоксиліном та зозином і за Ван-Гізоном. Визначення поширеності запального процесу м'яких тканин РТНЗ проводили методом В.Ф. Хотиняна (1983). Реєстрацію та порівняння показників гострого запалення здійснювали визначенням ЛПІ Я.Я. Кальф-Каліфа (1941, 1982) за формулою:

$$\text{ЛПІ} = \frac{(4\text{Мі} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С})(\text{Пл} + 1)}{(\text{Л} + \text{Мо})(\text{Е} + 1)},$$

де Мі – кількість мієлоцитів, Ю – кількість юних форм, П – палочкоядерних нейтрофілов, С – сегментоядерних нейтрофілов, Пл – плазматичних клітин, Л – лімфоцитів, Мо – моноцитів, Е – еозинофілів, що визначаються у лейкоцитарній формулі та виражаються у відсотках.

Лабораторні показники реєструвалися на 1-у, 5-ту та 7-ту добу ранового процесу.

**Гістологічні, гістохімічні та морфометричні дослідження уражених тканин.** Гістологічні дослідження виконані на кафедрі патологічної анатомії Харківського національного медичного університету.

Для морфологічного аналізу використовувався біоматеріал від пацієнтів з венозними (n=30), артеріальними (n=21) та нейротрофічними (n=18) виразками, а також нормальної шкіри нижніх кінцівок. (n=21). Для гістологічного дослідження забиралися шматочки пошкодженої шкіри на кордоні з неушкодженою шкірою. Шматочки фіксувалися в 10,0% розчині нейтрального формаліну на протязі 24 годин при  $T = 20^{\circ}\text{C}$ . Потім матеріал піддавався стандартній проводці через спирти зростаючої концентрації, рідину Нікіфорова (96,0% спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ, після чого заливався парафіном. З приготованих таким чином блоків робилися серійні зрізи товщиною  $4-5 \times 10^{-6}$  м.

Мікропрепарати, пофарбовані гематоксиліном й еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, за Маллорі, вивчали на мікроскопі «Olympus BX-4» з подальшою обробкою програмою «Olympus DP-soft version 3.1», за допомогою якої проводилося морфометричне дослідження [6], в ході якого визначалася глибина пошкодження.

**Імуногістохімічне дослідження** проводили на парафінових зрізах, товщиною 5-6 мкм, прямим методом Кунса за методикою М. Brosman (1979) з використанням моноклональних антитіл (МКА) до колагену I і III типів (Novocastra Laboratories Ltd.). Препарати вивчали в люмінісцентному мікроскопі «Axioskop 40». Кожен досліджуваний випадок піддавався оглядовій мікроскопії, при якій оцінювався загальний характер ураження шкіри, стан судинного русла, а також інтенсивність вторинних змін (крововилив, некроз, набряк, запалення).

Для подальшого морфо-гістохімічного дослідження шкірних країв рани ділянки її тканини піддавали заморожуванню в рідкому азоті з метою приготування блоків, з яких виробляли зрізи завтовшки. З приготовлених таким чином блоків робилися серійні зрізи завтовшки 5 мкм – для

гістохімічного фарбування та 2 мкм – для імуногістохімічного аналізу. Фарбування толуїдиновим синім або за Романовським-Гімзою проводили відповідно до протоколів, що використовуються.

Об'єктом дослідження виступили огрядні клітини (ОК) шкіри. Імуногістохімічне фарбування триптази з дотриманням необхідних вимог протоколу проводилося за допомогою первинних мишачих антитіл Anti-Mast Cell Tryptase antibody (клонАА1, #ab2378, розведення 1:2000), хімази - моноклональними мишачі антителами Anti-Mast Cell Chymase antibody (клон СС1, #ab2377, 1:1000). Як вторинні антитіла використовували козячі антимишачі антитіла. #AS-M1-HRP, візуалізація яких проводилась реагентом ImmPACT™ DAB Peroxidase Substrat Kit - #SK-4105 (згідно інструкції виробника). Ядра дофарбовувалися гематоксиліном Майєра, і зрізи полягали в постійному монтажному середовищі..

Для оцінки профілю експресії протеаз гладких клітин шкіри проводилося подвійне імуномаркування. Активність виведення протеаз ОК в екстрацелюлярний простір оцінювалася за допомогою морфологічних критеріїв секреторних шляхів триптази та хімази, з урахуванням виведення окремих гранул, змішаного екзоцитозу, пейсмеркерної дегрануляції та формування макровезикул [66]. При цьому вираховувалася відносна частота народження кожного шляху секреції від загальної кількості ОК і виражалася у відсотках. Крім того, для оцінки внутрішньопопуляційної взаємодії ОК шкіри враховувалося їхнє контактування один з одним і розраховувалося у відсотках від загальної чисельності популяції. Після проведеного планиметричного аналізу для полегшення сприйняття цифрового масиву отримані результати були адаптовані до площі шкіри в 1 мм<sup>2</sup>.

### **2.3 Вибір відповідного методу лікування**

Основна мета терапії хворих із РТНЗ – уповільнити прогресування хвороби, досягти максимальної стабілізації процесу, а далі – регресу клінічної

картини. Існуючі в даний час різні методи терапії хворих із РТНЗ недостатньо ефективні і часто супроводжуються небажаними побічними явищами.

Таким чином, в дисертаційній роботі представляється перспективним вивчення і розробка нових комплексних комбінованих фармакотерапевтичних методів лікування хворих із РТНЗ, включаючи традиційну базисну терапію, а також додатково лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» і новий сучасний фізичний метод ВАК-терапії.

Слід зазначити, що усіх пацієнтів розподілено на 3 групи, при цьому, 38 (35,05 %) пацієнтів із РТНЗ I групи порівняння отримали базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію та місцеве використання 0,02% розчину Декасана; 33 (30,92 %) хворих із РТНЗ II групи порівняння отримали базисне лікування: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана із додаванням препарату «Гемокорд-Кріоцелл», на протязі 7 діб, а 36 (34,01 %) хворих із РТНЗ основної групи - комплексне лікування за схемою, методику якої було розроблено у клініці: базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана, із додаванням препарату «Гемокорд-Кріоцелл», на протязі 7 діб, а також додатково сеанси VAC-терапії на протязі 5 діб.

#### **2.4 Статистична обробка даних**

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювався за допомогою стандартного пакета прикладних програм Microsoft Office Excel 2010 та StatSoft Statistica 6.0 [63, 149]. На етапі формування бази даних клініко-лабораторних досліджень для виключення грубих помилок вимірів контролювали відсутність викидів в ряду досліджуваних показників за допомогою критерію варіаційного розмаху і критерію Діксона. Для перевірки гіпотези про нормальність розподілу варіант, виражених у кількісній шкалі, застосовували коефіцієнти асиметрії та ексцесу, а також критерій Шапіро-Уїлка [150]. Обчислювалися значення середньої арифметичної ( $M$ ),

середнього квадратичного відхилення ( $\sigma$ ), похибки визначення середньої арифметичної ( $m$ ). Фінальні цифрові дані представляли в такому вигляді: середнє значення  $\pm$  стандартна похибка середньої величини. За допомогою  $t$ -критерію Ст'юдента-Фішера визначали достовірність розходжень ( $p$ ) порівнюваних групових середніх. Усі порівняння проводилися за довірчої вірогідності  $p = 95 \%$ , отже у разі отримання обчисленого рівня значущості критеріальної статистики  $p < 0,05$ , різниця між групами вважалася значущою [110]. У разі множинних порівнянь (більше, ніж між двома групами) використовувався багатофакторний дисперсійний аналіз із обчисленням критерія Крускала-Уолліса або парний критерій із поправкою на множинність порівнянь у формулюванні Дункана. Порівняльний аналіз між групами якісних показників (стадія, активність, клінічна форма захворювання) здійснювали за допомогою кореляції  $\rho$ -Спірмена [70]. Кореляційні залежності між числовими показниками оцінювалися коефіцієнтами кореляції Пірсона у відповідності зі шкалою вимірювання змінних, що розглядалися [120].

Застосування перерахованих методів сприяло отриманню максимально достовірних результатів, які, поряд з наявними літературними даними, дозволили вирішити поставлені завдання.

## **Резюме до розділу 2**

Визначено схему дослідження з урахуванням етапів проведення аналізу. Сформовано групи пацієнтів за видом проведеного лікування. Надано детальну характеристику методам, які використані в дисертаційному дослідженні – біохімічним, імунологічним, інструментальним, лікувальним, статистичним.

### РОЗДІЛ 3

## ІМУННИЙ СТАТУС І ПОРУШЕННЯ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ ІЗ РАНАМИ, ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ ДО ПРОВЕДЕННЯ ЛІКУВАННЯ

В цьому розділі наведено зміни показників імунологічного та біохімічного обстеження у хворих із РНТЗ до проведення лікування.

### 3.1 Дослідження неспецифічної резистентності та бар'єрних функцій у хворих із ранами, що тривало не загоюються, до проведення лікування

При вивченні фагоцитарної активності нейтрофілів і активності білків системи комплементу у хворих із РНТЗ були отримані наступні дані (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

#### Показники вродженого імунітету у хворих із РНТЗ до лікування

| Досліджувані групи                       | Показники вродженого імунітету |                   |                                |            |
|--|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|------------|
|  | Фагоцитарний індекс, %         | Фагоцитарне число | Індекс завершеності фагоцитозу | Комплемент |
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | 73,1±9,0                       | 3,3±0,05          | 1,2±0,1                        | 1,05±0,1   |
| Хворі із РНТЗ до лікування               | 81,2±7,2*                      | 3,8±0,2*          | 0,95±0,07                      | 0,95±0,06  |

*Примітка:* \* – розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Як видно з представлених у табл. 3.1 даних, у хворих із РНТЗ виявлено достовірні зміни показників неспецифічної резистентності.

Фагоцитарний індекс, що відображає кількість нейтрофілів, які беруть участь у фагоцитозі, у пацієнтів із РНТЗ, був на 10,0 % вищим, ніж в

контрольній групі. Відзначали зростання фагоцитарного числа на 13,0%. Індекс завершеності фагоцитозу, який характеризує перетравлюючу здатність нейтрофілів, був на 20,0 % нижчим, ніж у здорових донорів контрольної групи.

Також, виявлено зниження на 10,0% активності комплементу (при  $1,05 \pm 0,1$  в контрольній групі).

На рис. 3.1 представлена фагоцитуюча активність гранулоцитарних нейтрофілів у пацієнта із РНТЗ.

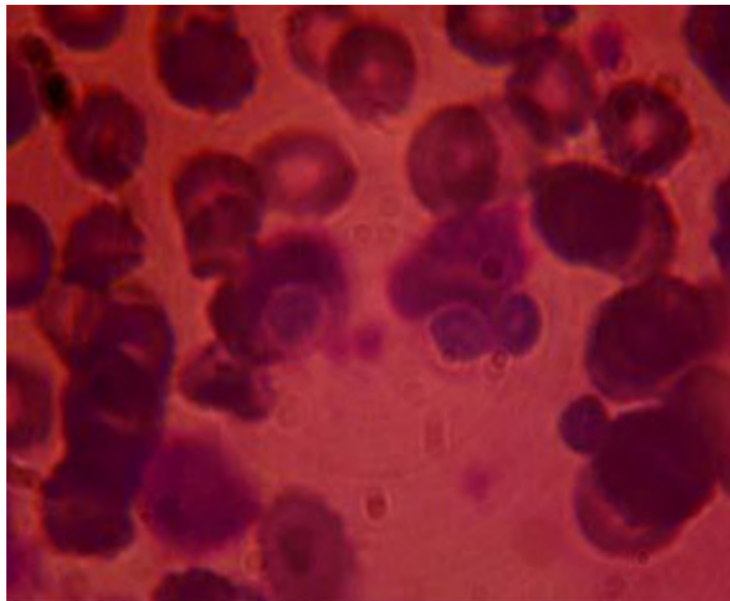


Рис. 3.1 Фагоцитоз нейтрофільних гранулоцитів у хворої із РНТЗ.  
Збільшення 20x10

Підвищений рівень фагоцитарного індексу до  $(81,2 \pm 7,2)\%$  та фагоцитарного числа до  $3,8 \pm 0,2$  у хворих із РНТЗ свідчить про напруженість функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів. Активність білків системи комплементу становила  $(0,95 \pm 0,06)$  у.од.

У обстежуваних хворих із РНТЗ до проведення лікування виявлено зміну показників гуморальної ланки імунітету (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Показники ПСММ та гуморальної ланки імунітету у хворих із РНТЗ до лікування**

| Досліджувані групи                          | Показники гуморальної ланки імунітету |           |              |            |
|---|---------------------------------------|-----------|--------------|------------|
|   | ПСММ, од. Е                           | ЛЦТ, %    | ЦК, у. од    | ЦКк        |
| Контрольна група<br>(умовно-здорові донори) | 0,244± 0,02                           | 28,6±2,30 | 98,3±21,1    | 1,3±0,08   |
| Хворі із РНТЗ до лікування                  | 0,379±0,032                           | 49,4±3,8* | 155,7±20,07* | 0,96±0,05* |

*Примітка:* \* – розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Як видно з табл. 3.2, концентрація пептидів середньої молекулярної маси у хворих із РНТЗ до проведення лікування становила  $(0,379 \pm 0,065)$  од. Е; це було в 1,6 рази вище, ніж у контрольній групі і вказувало на патологічні зрушення гомеостазу.

У групі пацієнтів до лікування відзначали достовірне зростання (в 1,7 рази) кількості аутоімунних антитіл в тесті лімфоцитотоксичності. Висока лімфоцитотоксичність сироватки крові свідчила про формування аутоімунних реакцій у пацієнтів з досліджуваною патологією.

Також, у пацієнтів із РНТЗ максимально (в 1,6 рази) була підвищеною концентрація ЦК при контрольному значенні показника –  $(98,3 \pm 21,1)$  у.од. Е ( $P \geq 0,95$ ) (табл. 3.1.2). Рівень константи ЦК, що характеризує їх молекулярну масу, був достовірно зниженим в 1,2 рази.

У тестах на виявлення органоспецифічних антитіл методом ІФА у всіх обстежених хворих із РНТЗ до лікування встановлено підвищену концентрацію антитіл до нативної ДНК. Так, якщо враховувати, що рівень антитіл до нативної ДНК в контрольній групі відповідає  $(0,5 \pm 0,04)$  од. Е, то у хворих РНТЗ до проведення лікування даний показник був значно підвищеним і становив  $(1,8 \pm 0,05)$  од. Е (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Вміст специфічних автоантитіл у хворих із РНТЗ до лікування**

| Показники                                | Вміст специфічних антинуклеарних антитіл в сироватці крові методом імунофлюоресценції | Концентрація специфічних антитіл до нативної ДНК методом ІФА, од. Е. |
|--|---|--|
| Досліджувані групи                       |   |  |
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | «-»   | 0,5±0,04   |
| Хворі із РНТЗ до лікування               | «++»  | 1,8±0,05*  |

*Примітка:* \* – розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

При проведенні скринінгового дослідження антиядерних антитіл ANA, було виявлено наявність цих антитіл у 32 % пацієнтів із РНТЗ. При цьому їх титр становив «+++» (табл. 3.3).

В подальшому у пацієнтів з наявністю ANA методом непрямої імунофлюоресцентної мікроскопії з використанням чіпових слайдів з імобілізованими стандартними субстратами: Нер-2 клітинами і зрізами печінки приматів, визначали тип сироваткових специфічних антиядерних антитіл до антигенів клітинних ядер та структур.

При цьому, у 6 пацієнтів в прогресуючій стадії захворювання виявлені антитіла до рибонуклеопротеїну U1-nRNP, які складаються з уридинового комплексу, багатого на РНК, з класичними РНП-антигенами і протеїнами: протеїн 70 kDa, протеїн А (33 kDa), протеїн С (22 kDa) та Sm, і виконують сплайсинг молекул пре-мРНК.

Досліджені імунологічні параметри слід вважати інтегральними маркерами донозологічної діагностики зсувів гомеостазу при РНТЗ (рис. 3.2-3.3).

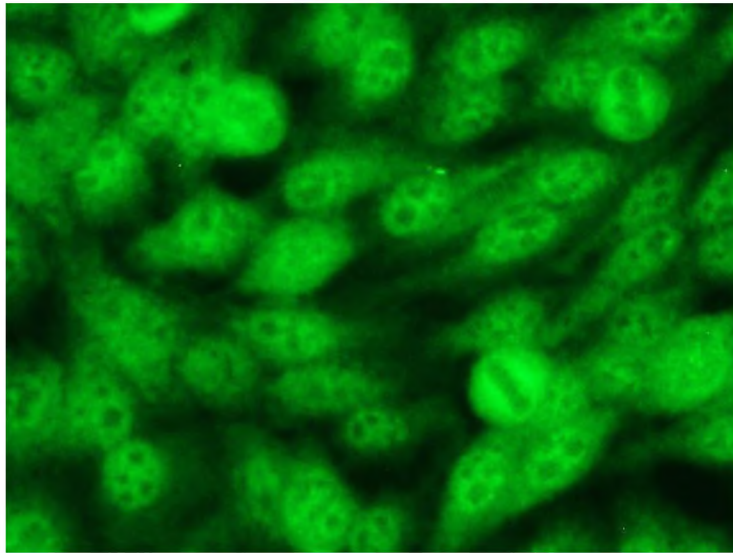


Рис. 3.2 Ядерний великогранулярний тип світіння: великогранулярне світіння всього ядра, за винятком ядерця. У мітотичних клітинах хромосоми залишаються темними, периферія рівномірно забарвлена. Патерн АС-5, виявлений у хворого із РНТЗ. (нРІФ, клітинна лінія Нер-2, збільшення 40x10)

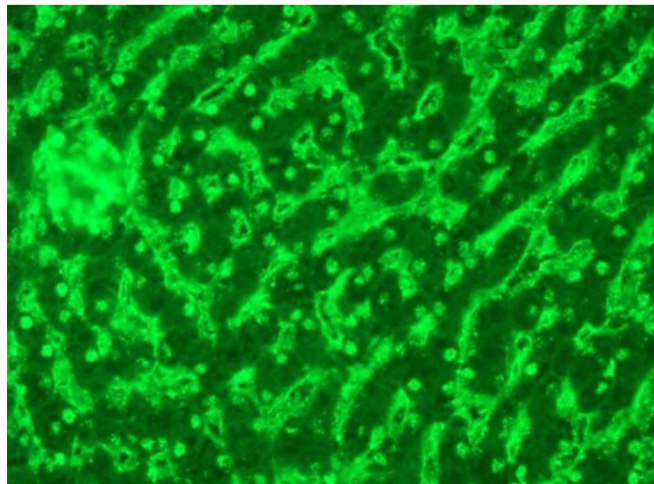


Рис. 3.3 Взаємодія сироваткових антитіл пацієнта із РНТЗ з антигенними структурами ядра на зрізах печінки мавпи – спостерігається гранулярне світіння. Реакція з ядрами клітин печінки мавпи має приблизно ту ж інтенсивність, що і з ядрами клітин Нер-2. Збільшення 20x10

У 6,5 % пацієнтів в прогресуючій стадії захворювання виявили аутоантитіла до ядерних антигенів - SS-A / Ro, SS-B / La, MI-2, Ku. Взаємодію сироваткових антитіл пацієнтів з цими антигенними структурами ядер спостерігали у вигляді однорідної і регулярної флуоресценції по всій нуклеоплазмі, ядерця були пофарбовані; мітотичні клітини (метафаза, анафаза і телофаза) мають інтенсивно однорідно забарвлену масу хроматину (патерн AC-4) (рис. 3.4).

Слід підкреслити, що SS-A / Ro представляє собою білок, пов'язаний з РНК Y1-Y5 в складі сплайсосома. SS-B / La антиген – нуклеоцитоплазматичний комплекс фосфопротеїна (48 kDa) з Ro РНК (hY1-hY5), який є термінальним транскрипційним фактором для РНК-полімерази III.

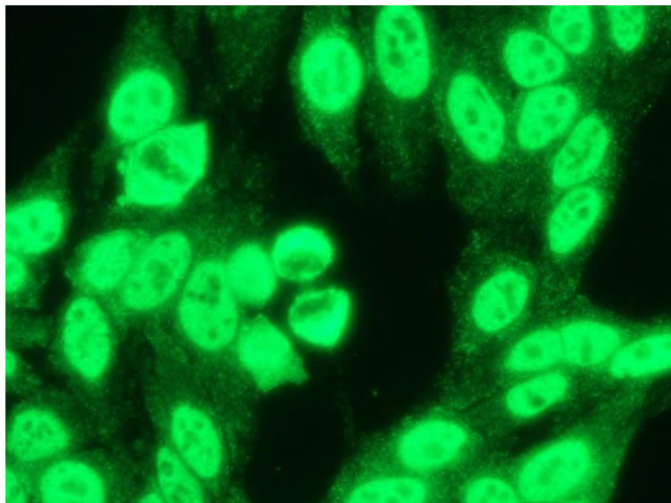


Рис. 3.4 Ядерний мілкогранулярний тип світіння: мілкогранулярне світіння всього ядра, за винятком ядерця. У мітотичних клітинах хроматин не забарвлений, а периферія рівномірно забарвлена. Патерн AC-4, виявлений у хворого із РНТЗ. (нРІФ, клітинна лінія HEp-2, збільшення 40x10)

У 2 пацієнтів із РНТЗ виявили антитіла до компонентів апарату Гольджі: макрогольгін, гольгін-95/GM130, гольгін-160, гольгін-97, гольгін-245 (рис. 3.5).

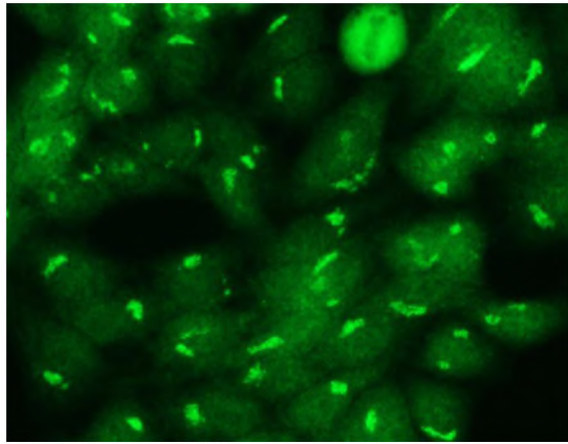


Рис. 3.5 Полярний тип світіння цитоплазми, гранульоване перинуклеарне забарвлення у вигляді стрічки з полярним розподілом в цитоплазмі (патерн АС-22), виявлений у хворого із РНТЗ. (нРІФ, клітинна лінія НЕр-2, збільшення 40x10)

Як відомо, апарат Гольджі виконує накопичувальну функцію виділення в клітині. Антитіла до цього органоїду можуть свідчити про його структурні порушення.

На рис. 3.6 показано гомогенний ядерний тип світіння (патерн АС-1), виявлений у хворого М із РНТЗ, що свідчить про наявність АТ двохланцюгової ДНК. Наявність цих антитіл виявили у 9,6 % обстежених пацієнтів.

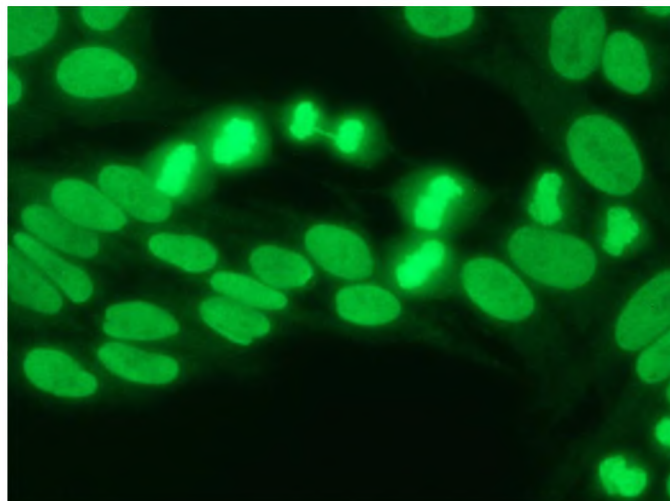


Рис. 3.6 Гомогенний ядерний тип світіння(патерн АС-1), виявлений у хворого із РНТЗ (нРІФ, клітинна лінія НЕр-2, збільшення 40x10)

У 3,8 % пацієнтів із РНТЗ виявили антитіла до центромер (рис. 3.7), що може впливати на перебіг проліферативних процесів, процеси репарації і регенерації в тканинах.

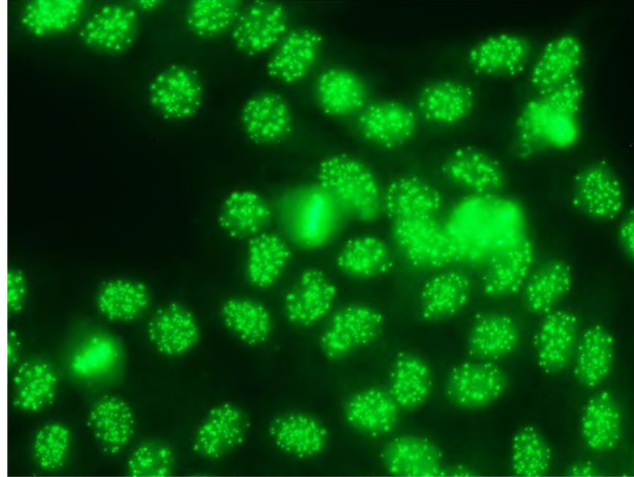


Рис. 3.7 Центромерний тип світіння (АС-3) виявлений у хворого із РНТЗ. (нРІФ, клітинна лінія НЕР-2, збільшення 40х10)

У 3,9 % хворих із РНТЗ вивили лінійний фібрилярний цитоплазматичний тип світіння, що свідчить про наявність антитіл до актину міофібрил (рис. 3.8).

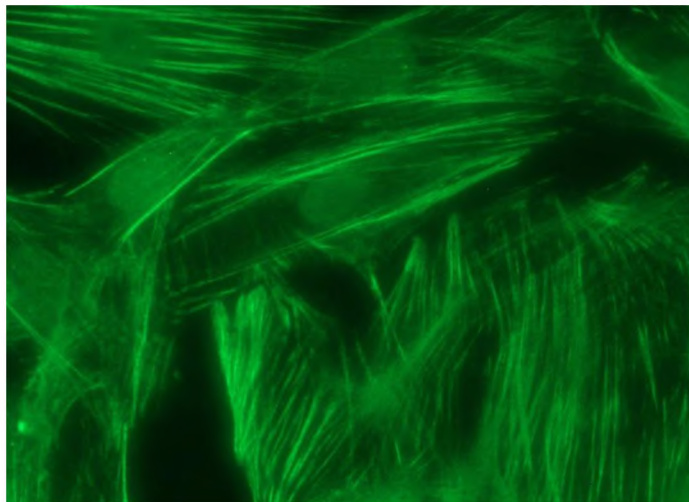


Рис. 3.8 Лінійний фібрилярний цитоплазматичний тип світіння (патерн АС-15), виявлений у хворого Г., 39 років, із РНТЗ. (нРІФ, клітинна лінія НЕР-2, збільшення 40х10)

У пацієнтів з РНТЗ поряд з показниками неспецифічної резистентності та гуморального імунітету до лікування досліджували також зміни показників клітинного імунітету – експресію поверхневих маркерів диференціювання - CD (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Рівень субпопуляцій лімфоцитів у хворих із РНТЗ до лікування**

| Субпопуляції лімфоцитів                       | Контрольна група<br>(умовно здорові донори) | Хворі із РНТЗ<br>до лікування |
|---|---|-------------------------------|
| CD 3 <sup>+</sup> , абс. × 10 <sup>6</sup> /л | 1100,0±450,0                                | 781,7±100,0                   |
| CD 3 <sup>+</sup> , %                         | 62,0±6,5                                    | 48,1±4,6*                     |
| CD 4 <sup>+</sup> , абс. × 10 <sup>6</sup> /л | 600,0±195,0                                 | 601,0±180,0                   |
| CD 4 <sup>+</sup> , %                         | 38,3±6,5                                    | 37,0±9,3                      |
| CD 8 <sup>+</sup> , абс. × 10 <sup>6</sup> /л | 300,0±98,0                                  | 240,3±41,0                    |
| CD 8 <sup>+</sup> , %                         | 23,4±4,4                                    | 16,1±2,0                      |
| CD 4 <sup>+</sup> / CD 8 <sup>+</sup>         | 2,1±0,5                                     | 2,7±0,3                       |

*Примітка:* \* – розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

У пацієнтів із РНТЗ до лікування відзначали пригнічення за деякими показниками Т-клітинного імунітету. Так, виявили зниження на 29,0% у порівнянні з контрольною групою відносної кількості найбільш значущої лімфоїдної субпопуляції CD3<sup>+</sup> загальних Т-лімфоцитів. Також спостерігалось зменшення процентної кількості CD8<sup>+</sup> - на 39,0% відносно контролю.

А рівень експресії CD4<sup>+</sup> не відрізнявся від контрольних значень. Також спостерігалось підвищення (в 1,3 рази вище референтних значень і контрольної групи донорів) імунорегуляторного індексу CD4<sup>+</sup> / CD8<sup>+</sup> до 2,7 ± 0,3 в групі РНТЗ до лікування, що вказує на гостру фазу запального процесу та наявність формування аутоімунних реакцій.

На рис. 3.10 представлена експресія кластера диференціювання CD3<sup>+</sup>.

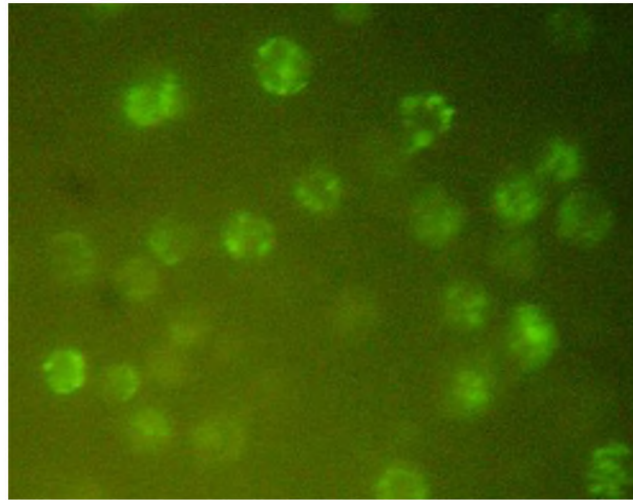


Рис. 3.10 Експресія поверхневих маркерів диференціювання CD3<sup>+</sup> на Т-лімфоцитах у хворого із РНТЗ. Збільшення 40x10

Аналіз отриманих результатів дослідження загальної резистентності і специфічних імунних реакцій у хворих із РНТЗ показав, що середні значення досліджуваних параметрів вродженого імунітету перевищують контрольні значення, що свідчить про антигенне подразнення внаслідок бактеріального запалення. Рівень зниження загальної кількості Т-лімфоцитів виявлений у пацієнтів з РНТЗ, визначається інтенсивністю запального процесу. Також, виявлений низький рівень цитотоксичних CD8<sup>+</sup> Т-лімфоцитів, може призводити до переважання стимулюючого впливу Т-хелперів, в тому числі і на В-клітини, які продукують в тому числі і аутоантитіла. При цьому їх кількість може досягати критичного рівня, що здатна викликати пошкодження власних тканин організму, і викликати високу гуморальну сенсibiliзацію і ступінь ендогенної інтоксикації. Виявлено індивідуальний характер зміни показників резистентності та імунної відповіді, що залежить від стану хворих із РНТЗ.

Підвищення вмісту пептидів середньоїмолекулярної маси, яке ми виявили у пацієнтів з РНТЗ, свідчить про порушення функціональної активності систем детоксикації та посилення катаболізму білків. Як відомо, надлишок середньомолекулярних з'єднань має токсичну та мутагенну дію. Окремі

компоненти ПСММ мають, також, широкий спектр біологічної активності, яка включає пригнічення неспецифічної реактивності та клітинного імунітету.

У хворих із наявністю РНТЗ і вираженою гуморальною сенсibiliзацією та підвищеною активністю фагоцитозу, спостерігалось, як правило, зниження експресії диференціувальних маркерів CD.

У деяких пацієнтів в прогресуючій стадії відзначали або імуносупресію в гуморальній та клітинній ланці, або надлишкову активацію неспецифічної резистентності і гуморальних реакцій, включаючи індуковану лімфоцитотоксичність і утворення антитіл до нативної ДНК.

У якості зручних прогностичних тестів перебігу захворювання можуть бути використані показники експресії маркерів клітинного диференціювання імунокомпетентних клітин - CD.

Активність білків системи комплементу і фагоцитуюча функція нейтрофілів мають важливе прогностичне значення, оскільки недостатність активності білків системи комплементу та зниження перетравлюючої властивості нуйтрофільних гранулоцитів, є негативним прогностичним тестом перебігу ранового процесу у хворих із РНТЗ, особливо при надлишковій лімфоцитотоксичності і високому титр антитіл до ДНК.

Наявність у хворих із РНТЗ антиядерних антитіл ANA та підвищення антитіл до нативної ДНК свідчило про розвиток у цих пацієнтів виражених аутоімунних реакцій.

### **3.2 Особливості біохімічних змін у хворих із ранами, що тривало не загоюються, до проведення лікування**

Програма досліджень передбачала вивчення особливостей структурно-метаболичного стану сполучної тканини (СТ) у хворих із РНТЗ у групі умовно-здорових пацієнтів.

Для цього у плазмі крові пацієнтів досліджуваних груп до лікування визначався вміст глікозаміногліканів, активність фермента еластази і

колагенолітична активність (КЛА) плазми крові, які свідчать про стан структурно-метаболических та обмінних процесів СТ при РНТЗ.

При вивченні структурно-метаболического стану СТ у хворих із РНТЗ до лікування виявили високу активність еластази, яка перевищувала даний показник в умовно здоровій групі спостереження на 34%. Вміст ГАГ у хворих із РНТЗ до лікування був підвищеним на 26% у порівнянні з контрольною групою умовно-здорових донорів (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Вміст глікозаміногліканів і активність еластази в плазмі крові хворих із РНТЗ до лікування**

| Досліджувані групи                       | Показники, $M \pm m$ |                               |
|--|----------------------|-------------------------------|
|  | Еластаза (пг/мл)     | Глікозаміноглікани (мкмоль/л) |
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | 27,3±1,8             | 35,8±1,2                      |
| Хворі із РНТЗ до лікування               | 41,5±11,6*           | 48,5±5,4*                     |

*Примітка:* \* – розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

КЛА плазми крові не залежала від статі, добре корелювала з показниками активності і також була підвищеною (в 2,6 рази) в груп іпацієнтів із РНТЗ до лікування у порівнянні з контрольною групою (табл. 3.6 і рис. 3.11).

Таблиця 3.6

**Динаміка рівня колагенолітичної активності плазми крові (по оксипроліну) у хворих із РНТЗ до лікування**

| Досліджувані групи                       | КЛА крові, $M \pm m$ (мкмоль оксипроліна/л·г) |
|--|---|
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | 7,4±0,6                                       |
| Хворі із РНТЗ до лікування               | 19,3±3,6*                                     |

*Примітка:* \* – розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

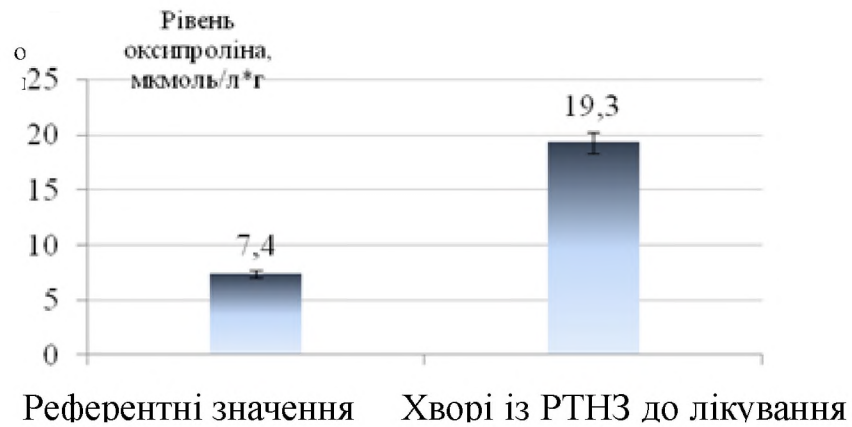


Рис. 3.11 Динаміка рівня оксипроліна у хворих із РНТЗ до лікування й в умовно-здорових донорів

Як видно з даних табл. 3.6 і рис. 3.11 у пацієнтів із РНТЗ до лікування було виявлено достовірне збільшення оксипроліна.

Рівні КЛА плазми крові у пацієнтів із РНТЗ до лікування перевищували дані умовно-здорових пацієнтів, що забезпечує цим показником важливе діагностичне і прогностичне значення при визначенні ступеня вираженості і локалізації осередків.

Таким чином, аналіз результатів проведених досліджень виявив ряд особливостей біохімічних показників і свідчить про те, що перебіг ранового процесу у хворих із РНТЗ супроводжується глибокими порушеннями обміну СТ, які підтверджуються підвищенням активності еластази, колагенолітичної активності сироватки крові і вмісту в ній глікозаміногліканів до лікування.

У групах хворих із РНТЗ до проведеного лікування і умовно-здорових донорів проведено дослідження рівня С-реактивного білка (СРБ), концентрація якого зростає в сироватці крові при різних патологічних, запальних і деструктивних процесах і залежить від ступеня вираженості запального процесу (рис. 3.12).

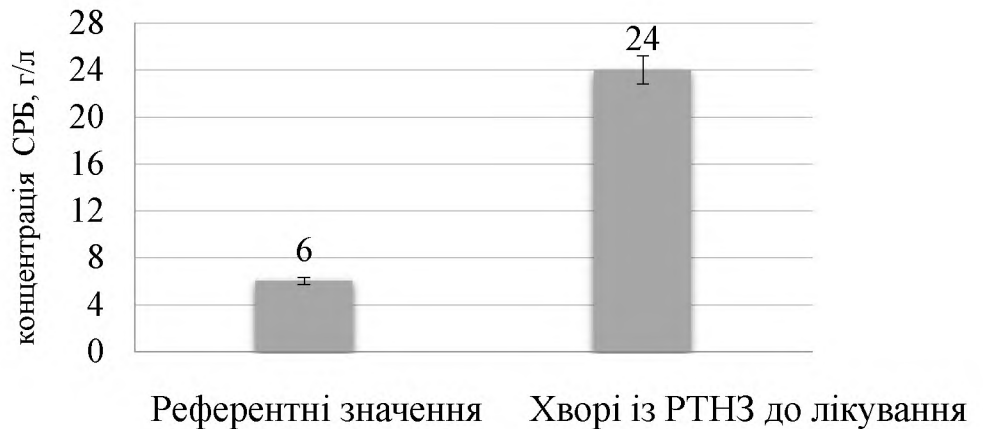


Рис. 3.12 Дослідження рівня С-реактивного білку у хворих з РНТЗ до лікування й в умовно-здорових донорів

У дослідженнях було показано, що у пацієнтів із РНТЗ концентрація СРБ була збільшеною до рівня 24 г/л, що в 4 рази було вище, ніж у контрольній групі у умовно-здорових донорів, і свідчило про перебіг гострої фази запального процесу.

У сироватці крові хворих із РНТЗ до лікування виявили достовірне підвищення вмісту магнію в 1,6 рази щодо контрольної групи здорових донорів, і зниження рівня хлору в 1,1 рази, що характеризує наявність метаболічних порушень у даній категорії хворих, які зачіпають не тільки імунореактивність, а й водно-електролітний обмін.

Вивчення білкових фракцій сироватки крові показало наявність запального процесу у хворих із РНТЗ.

При дослідженні концентрації білкових фракцій сироватки крові у пацієнтів із РНТЗ до лікування виявили значне зниження (на 23,7 %) альбумінової фракції білка і дворазове підвищення  $\alpha$ 1- та  $\alpha$ 2-глобулінової фракцій, рівень  $\beta$ -глобулінової фракції достовірно не відрізнявся від контрольних значень.

Також в цій групі виявили деяке підвищення  $\gamma$ -глобулінової фракції.

Значне підвищення  $\alpha 1$ - та  $\alpha 2$ -глобулінових фракцій, а також помірне підвищення  $\gamma$ -глобулінової фракції свідчить про гострий запальний процес або загострення хронічного запального процесу, а також наявність процесів тканинного розпаду та деструкції тканин. Крім того, підвищення, хоч і незначне,  $\gamma$ -глобулінової фракції є показником формування аутоімунних реакцій.

При вивченні показників ліпідного обміну у хворих із РНТЗ до лікування були отримані наступні дані (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Показники ліпідного обміну у хворих із РНТЗ до лікування**

| Групи   | Показники              |                          |                  |                  |                            |
|---|------------------------|--------------------------|------------------|------------------|----------------------------|
|   | Холестерін,<br>ммоль/л | Тригліцериди,<br>ммоль/л | ЛПВЩ,<br>ммоль/л | ЛПНЩ,<br>ммоль/л | Коеф.<br>атерогенн<br>ості |
| Контрольна<br>група<br>(умовно-<br>здорові<br>донори) | 4,1±0,8                | 1,1±0,8                  | 1,0±0,02         | 1,6±0,05         | 2,2±0,5                    |
| Хворі із<br>РНТЗ до<br>лікування                      | 3,2±0,3                | 0,8±0,03*                | 2,1±0,32*        | 3,6±0,13         | 0,8±0,2*                   |

*Примітка:* \* – розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Виявили зміни в рівні показників ліпідних фракцій у пацієнтів із РНТЗ при дослідженні до лікування. Відзначали знижений рівень холестерину (в 1,3 рази) і тригліцеридів (в 1,4 рази) щодо рівня контрольної групи здорових донорів.

Концентрація ліпопротеїдів високої щільності, навпаки, була підвищеною в 2,1 рази у порівнянні з контролем і становила ( $2,1 \pm 0,32$ ) моль/л.

Виходячи з цього, коефіцієнт атерогенності також був нижчим, ніж у контрольній групі (в 2,8 рази) і становив  $0,8 \pm 0,2$ .

Зміна показників ліпідного обміну і білкових фракцій додатково підтверджує порушення регуляторних і регенеративних функцій на рівні структурної організації клітинних мембран.

Підвищення вмісту магнію і зниження рівня хлору у хворих із РНТЗ до проведення лікування характеризує наявність глибоких метаболічних порушень у даній категорії пацієнтів, які зачіпають не тільки імунореактивність але і водно-електролітний обмін.

Слід зазначити, що аналіз досліджуваних показників загальної резистентності і специфічних імунних реакцій у хворих із РНТЗ не завжди дозволяє виявити наявність істотних змін імунореактивності до лікування. Однак індивідуальний аналіз неспецифічної резистентності і специфічної імунної відповіді у хворих дозволив виявити наявність серйозних змін в досліджуваних показниках до проведення лікування.

### **Резюме до розділу 3**

Проведені дослідження показали в більшості випадків переважання значення досліджуваних показників у пацієнтів із РНТЗ до проведеного лікування.

Було виявлено збільшення імунологічних показників (фагоцитарний індекс, фагоцитарне число, індекс завершення фагоцитозу, концентрація пептидів середньої молекулярної маси, циркулюючих імунних комплексів, лімфоцитотоксичність, антитіла до нативної ДНК, антиядерні антитіла АНА); біохімічних показників (збільшення СРБ, концентрації магнію,  $\alpha$ 1-,  $\alpha$ 2-, та  $\gamma$ -фракцій глобуліну,  $\beta$ -ліпопротеїдів, ЛПВП та зниження концентрації хлору, альбуміну,  $\alpha$ 1-глобулінової фракції, загальних ліпідів, холестерину, триглицеридів).

Особливо слід зазначити збільшення рівня показників структурно-метаболічного стану сполучної тканини – еластази, глікозаміногліканів, колагенолітичної активності плазми крові (за оксипроліном).

Дослідження показали, що комплексне визначення зазначених показників підвищує точність встановлення ступеня тяжкості перебігу ранового процесу, його вираженості та прогнозу у хворих із РНТЗ.

## РОЗДІЛ 4

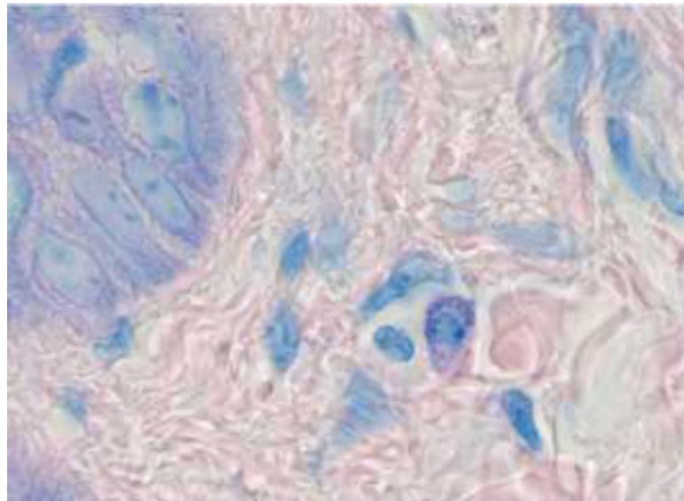
### РЕЗУЛЬТАТИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ РАН, ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ, РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

На сучасному етапі розвитку хірургії прогрес у лікуванні РТНЗ неможливий без виявлення морфологічних особливостей шкірних країв ран, дослідження молекулярних механізмів формування патологічних змін та детекції стану ключових сигнальних шляхів формування тяжкості та поширеності вогнища ураження за допомогою імуногістохімічного аналізу.

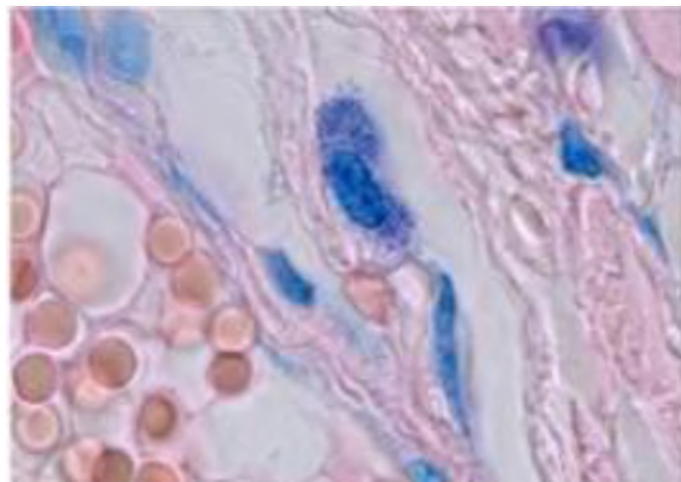
З цих позицій звертають на себе увагу огрядні клітини (ОК), які мають широкі можливості в регуляції місцевого гомеостазу у хворих з РТНЗ. Дуже рано активуючись після ураження шкірних країв рани, вони беруть активну участь у всіх фазах ранового процесу, організуючи імунологічні та запальні реакції, зупиняють процес активного пошкодження та беруть участь у процесі загоєння ранового вогнища у хворих з РТНЗ.

Ультраструктура ОК тканини здорової шкіри показала адекватність гістологічної обробки тканин та задовільну безпеку їх ультраструктурних компонентів.

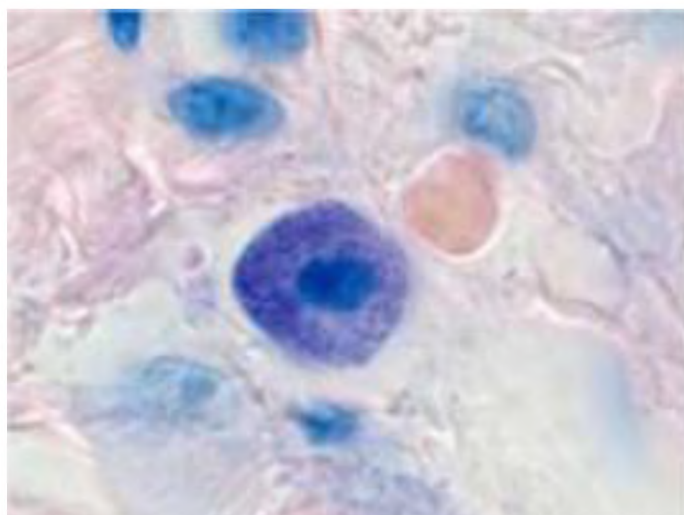
Так, в шкірі без патологічних змін ОК були розподілені нерівномірно. При цьому ОК, локалізовані в сосочковому шарі дерми, характеризувались меншими розмірами і невеликим вмістом секреторних гранул в цитоплазмі, а ОК, що супроводжують судини, кінцеві відділи залоз і волосяні цибулини, мали великі розміри, велику кількість секреторного матеріалу і переважно овальну форму (рис. 4.1).



а



б



в

Рис. 4.1 Мікрофото препарату шкіри. Цитологічні особливості огрядних клітин шкіри без патологічних змін: а - огрядні клітини овальної форми, без видимих ознак секреторної діяльності, локалізовані поряд з венозним відділом

мікроциркуляторного русла (б) або капіляром (в). Забарвлення по Романівському-Гімза. Шкала = 10 мкм

Таким чином, ультраструктурна організація клітин здорової шкіри відповідала класичному уявленню про субмікроскопічний пристрій структурних компонентів, що свідчило про задовільну фіксацію та подальшу гістологічну обробку шматочків тканини, взятої для імуно-гістохімічного дослідження.

Далі проведено дослідження патологічно змінених тканин шкірних країв РТНЗ різної етіології: при хронічній артеріальній (ХАН), хронічній венозній недостатності (ХВН) та при нейротрофічних – НТ РТНЗ.

При імуно-гістохімічному дослідженні тканин ран, що тривало не загоюються різної етіології, встановлено різноманітні зміни. Так, у шкірних краях переважали ОК з одночасної експресією протеаз, менший пул становили ОК із ізольованою секрецією триптази чи хімази. У табл. 4.1 наведено параметри об'єму популяції ОК шкірних країв рани (на 1 мм<sup>2</sup>).

Таблиця 4.1

**Обсяг популяції огрядних клітин шкірних країв рани (на 1 мм<sup>2</sup>)**

| Вид              | Нор  | РТНЗ при    | РТНЗ при    | НТ  |
|------------------|------|-------------|-------------|-----|
| Метахромазія     | 12,8 | 25,5 ± 2,8* | 14,4 ± 1,9  | 43, |
| Хімаза-позитивні | 9,7  | 45,8 ±      | 30,6 ± 4,3* | 75, |
| Триптаза-        | 11,2 | 51,6 ± 8,7* | 36,8 ± 6,7* | 66, |

*Примітка:* \* p < 0,05 в порівнянні з групою «норма»

Набагато менше значення секреторної активності ТК в нормі становило виведення окремих протеаза-позитивних гранул ОК у позаклітинний матрикс, а також утворення післяклітинних компартментів, локалізованих у позаклітинному матриксі (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Морфологічні еквіваленти секреторних шляхів протеаз  
у огрядних клітинах шкірних країв рани, %**

| Форми секреторних шляхів                       | Норма      | РТНЗ<br>при ХВН | РТНЗ<br>при ХАН | НТ РТНЗ     |
|--|------------|-----------------|-----------------|-------------|
| <b>Триптаза-позитивні ОК</b>                   |            |                 |                 |             |
| Без ознак секреції                             | 59,2 ± 5,4 | 21,2 ± 3,2*     | 18,4 ± 2,1*     | 8,4 ± 0,9*  |
| Секреція окремих гранул                        | 13,0 ± 1,8 | 23,4 ± 2,8*     | 28,6 ± 1,9*     | 39,2 ± 4,7* |
| Змішаний екзоцитоз +<br>поступова дегрануляція | 21,8 ± 3,3 | 41,2 ± 5,2*     | 40,7 ± 4,6*     | 36,0 ± 3,3* |
| Формування макровезикул                        | 6,0 ± 1,2  | 14,2 ± 2,3*     | 12,3 ± 1,8*     | 16,4 ± 1,4* |
| <b>Хімаза-позитивні ОК</b>                     |            |                 |                 |             |
| Без ознак секреції                             | 60,3 ± 7,2 | 12,6 ± 1,1*     | 19,2 ± 1,5*     | 13,8 ± 0,8* |
| Секреція окремих гранул                        | 8,4 ± 0,9  | 15,4 ± 1,6*     | 21,3 ± 1,9*     | 33,4 ± 3,5* |
| Змішаний екзоцитоз +<br>поступова дегрануляція | 25,1 ± 2,2 | 59,4 ± 4,1*     | 43,3 ± 3,8*     | 37,1 ± 3,4* |
| Формування макровезикул                        | 6,2 ± 0,5  | 12,6 ± 0,9*     | 16,2 ± 0,9*     | 15,7 ± 2,0* |

\*  $p < 0,05$  в порівнянні з групою «норма»

З даних таблиці видно, що вміст триптаза-позитивних ОК у популяції шкірних країв рани зростало більш ніж утричі, характеризуючись високою достовірністю порівняно з результатами обстеження шкірних країв рани без патологічних змін.

У пацієнтів із ХАН після фарбування толуїдиновим синім не відбувалося достовірних змін чисельності метакроматичних ОК у полі зору. У той самий час з'являлися ОК невеликих розмірів (рис.4.2).

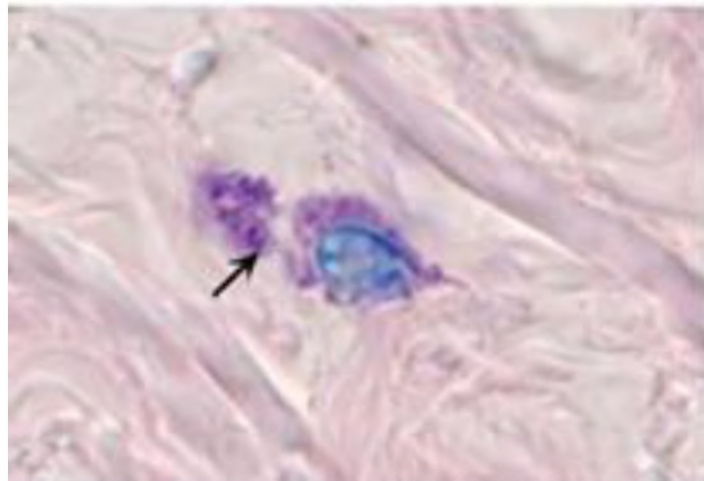


Рис. 4.2 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХАН: ОК малого розміру, відшнурівка макровезикули (вказано стрілкою)

Більше половини протеаза-содержащих ОК морфологічно були недегранульовані форми. Переважним механізмом виведення протеаз була поступова дегрануляція, про що свідчило присутність триптази чи хімази у перичелюлярному просторі без видимих ознак секреції (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Профіль експресії протеаз у огрядних клітинах шкірних країв рани за результатами множинного імуномаркування, %

| Вид                                       | Норма      | РТНЗ при ХВН | РТНЗ при ХАН | НТ РТНЗ     |
|---|------------|--------------|--------------|-------------|
| Триптаза-позитивні                        | 20,3 ± 2,4 | 9,4 ± 1,7*   | 13,7 ± 0,9*  | 7,3 ± 1,3*  |
| Хімаза-позитивні                          | 15,7 ± 1,4 | 7,2 ± 0,9*   | 12,1 ± 1,1*  | 4,3 ± 0,9*  |
| Одновременна експресія триптази та хімази | 67,0 ± 3,8 | 83,4 ± 10,2* | 74,2 ± 7,1*  | 88,4 ± 7,2* |

Умовні позначення: \* -  $p < 0,05$  в порівнянні з групою «норма»

За даними таблиці виявлялося достовірно зростання триптаза-позитивних ОК разом з хімаза-вмісними, що чітко визначається на рис. 4.3-4.4.

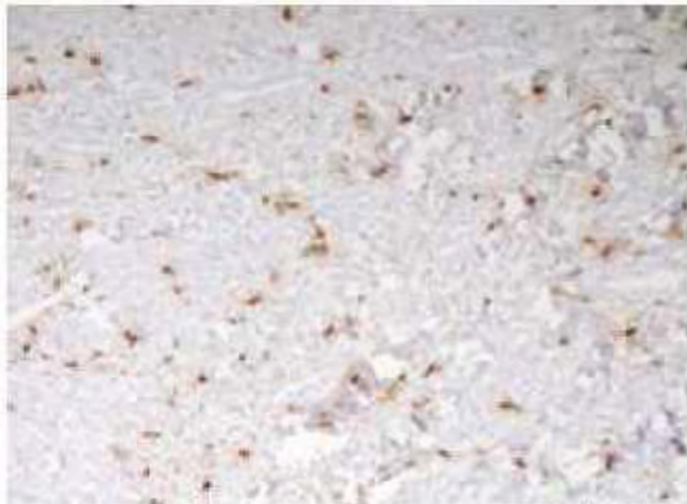


Рис. 4.3 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого з РТНЗ при ХАН: Триптаза-позитивні ОК

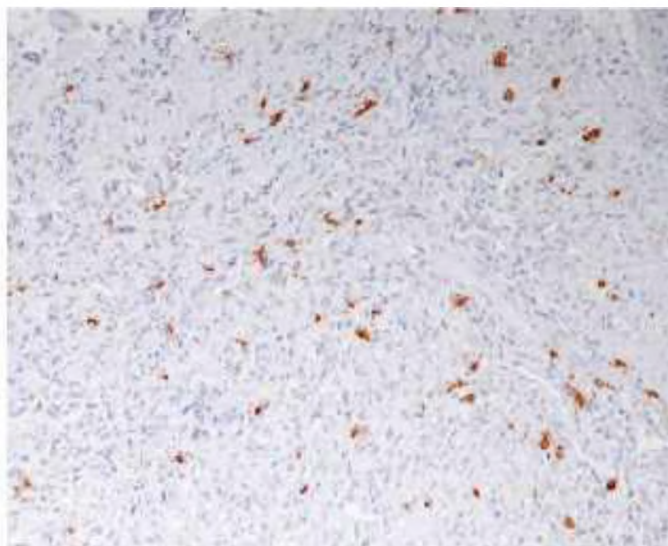


Рис. 4.4 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХАН: - зростання чисельності хімаза-позитивних ОК у дермі шкірних країв рани

Слід зазначити, що кількість ОК з одночасною експресією триптази та хімази значно зростала, тоді як пул ОК із вмістом виключно триптази або хімази скорочувався (рис. 4.5).

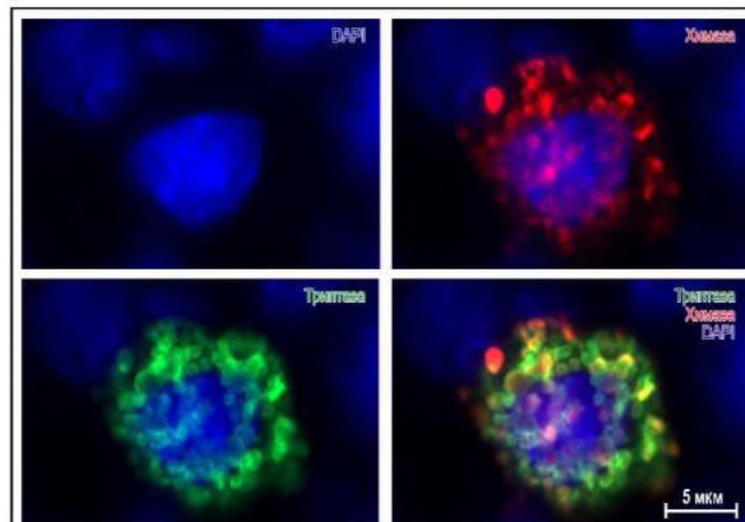


Рис. 4.5 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РГНЗ при ХАН: – огрядна клітина з одночасною експресією триптази та хімази. Локалізація протеаз може бути в різних гранулах, часто зустрічається солокалізація триптази та хімази в одних і тих же локусах гранул

Привертало увагу формування груп ОК у певних локусах специфічного тканинного мікрооточення дерми шкірних країв рани. Однак частота контактування ОК один з одним знижувалася, свідчивши про формування тенденції до роз'єднання їх внутрішньопопуляційних взаємодій.

Активізація секреторних шляхів протеаз у ОК виявлялася як за рахунок виведення окремих триптаза- і хімаза-позитивних гранул у позаклітинний матрикс, так і за допомогою утворення фрагментів цитоплазми, що містять гранули, з великою частотою локалізуються в дермі шкірних країв рани у зіставленні із групою порівняння (рис. 4.6-4.8).

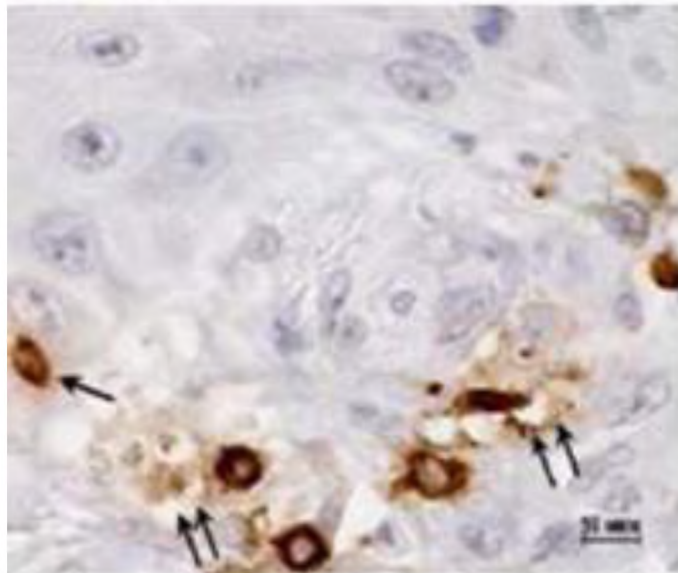


Рис. 4.6 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХАН: ремоделювання огрядними клітинами позаклітинного матриксу сполучної тканини сосочкового шару шкірних країв рани (вказано стрілками), міграція в базальний шар епідермісу (вказано подвійною стрілкою)

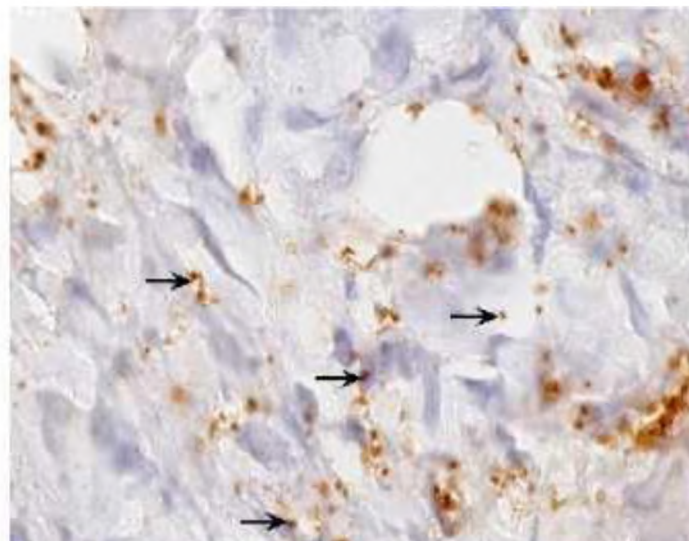


Рис. 4.7 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХАН: – активна секреція хімази у позаклітинний матрикс дерми шкірних країв рани механізмом екзоцитозу, визначаються гранули, що вільно лежать (зазначено стрілками)

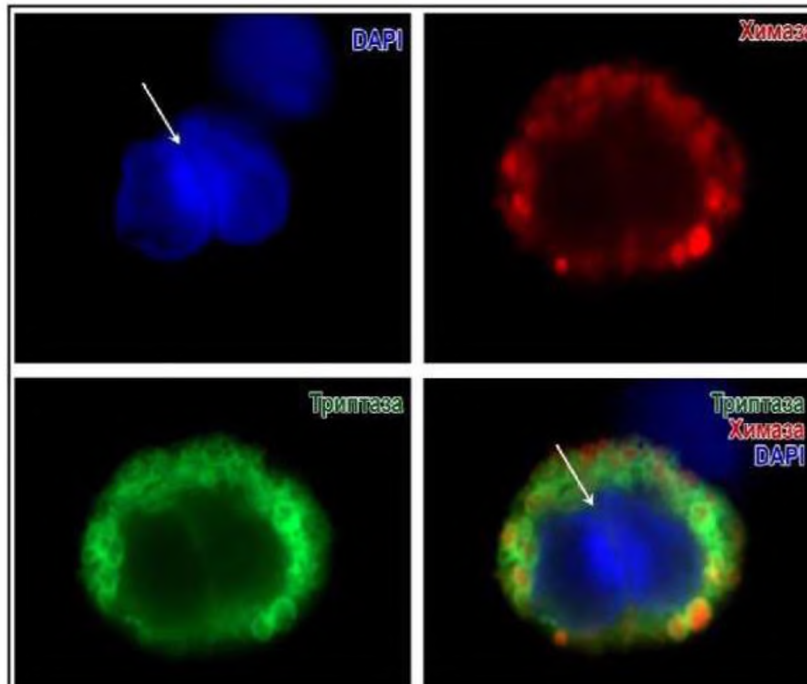


Рис. 4.8 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: Тісна солокалізація огрядних клітин з близьким розташуванням ядер один до одного (вказано стрілкою)

Одночасно слід зазначити і активізацію механізму змішаного екзоцитозу та пейсмекерної дегрануляції, про що свідчила висока імунопозитивність позаклітинного матриксу на специфічні протеази огрядних клітин у перицелюлярному просторі.

Цікавою знахідкою стали спазмовані артерії, адвентиція яких була схильна до вираженої інфільтрації триптаза-позитивними гранулами ОК (рис. 4.9).

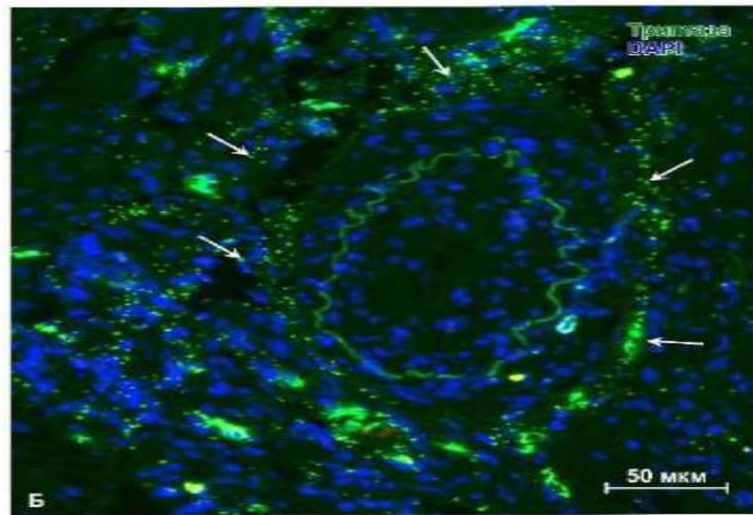


Рис. 4.9 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХАН: визначається секреція триптази ОК у периваскулярний простір артерії, просвіт якої практично відсутній (зазначено стрілками)

При формуванні хронічної венозної недостатності відбувалися більш істотні зміни структури популяції ОК в порівнянні з групою контролю, розмах яких перевищував аналогічні показники при артеріальній недостатності. Зокрема, більшою мірою зростала чисельність ОК. Достовірно збільшувався вміст ОК не тільки після фарбування толуїдиновим синім, а й після імуногістохімічної ідентифікації протеаз, у кілька разів перевищуючи обсяг популяції ТК у шкірі без патологічних змін (рис. 4.10-4.12).

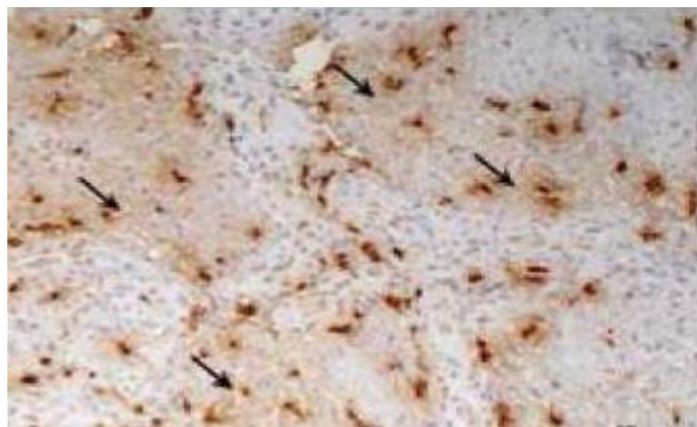


Рис. 4.10 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: збільшення обсягу популяції огрядних клітин, формування великих триптаза-позитивних територій у сітчастому шарі дерми (зазначено стрілками)

При цьому привертало увагу особливо високе зростання представництва хімаза-позитивних ОК. У тканинному мікрооточенні при хронічній венозній недостатності часто виявлялася солокалізація ОК з капілярною мережею (рис. 4.11).



Рис. 4.11 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: перикапілярна локалізація ОК

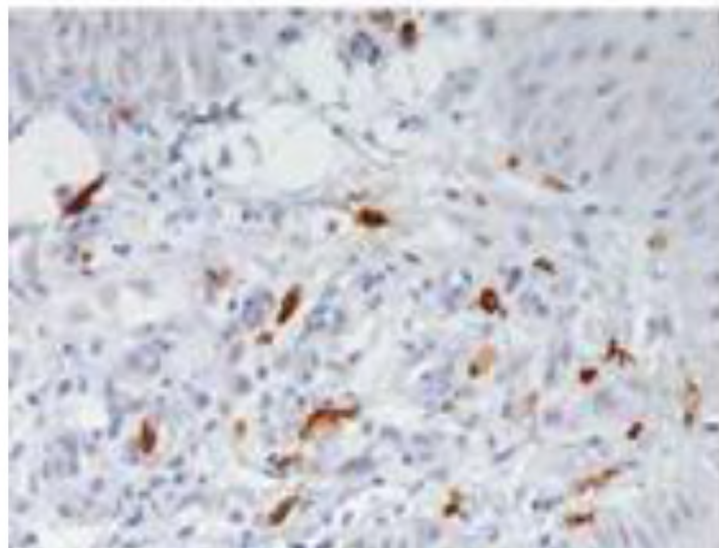
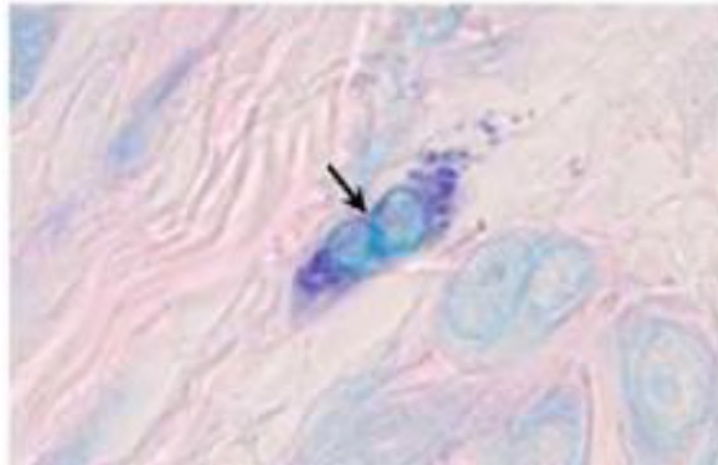
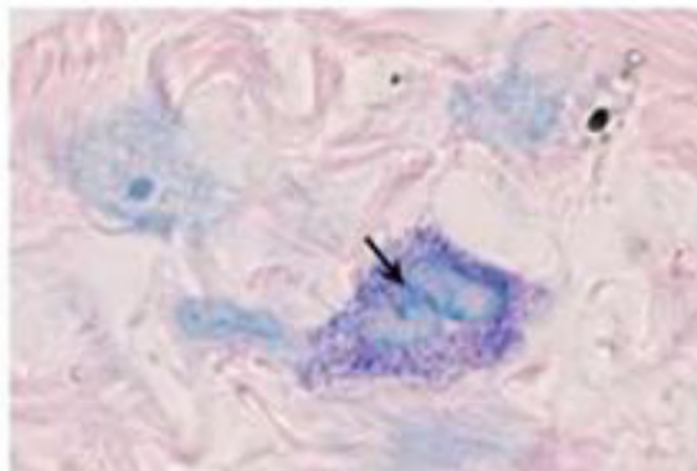


Рис. 4.12 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: висока кількість хімаза-позитивних ОК у сосочковому шарі дерми шкірних країв рани, що активно секретують протеазу

Зростала старанність хімаза-позитивних ОК один до одного. У цьому цитологічна характеристика дотику ОК істотно змінювалася. Досить часто при солокалізації ОК каріолеми їх ядер практично стикалися, що найбільше добре візуалізувалося при флуоресцентній мікроскопії (рис. 4.13-4.14).



а



б

Рис. 4.13 (а, б): Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: варіанти контактування ОК один з одним, близьке розташування ядер (вказано стрілкою)

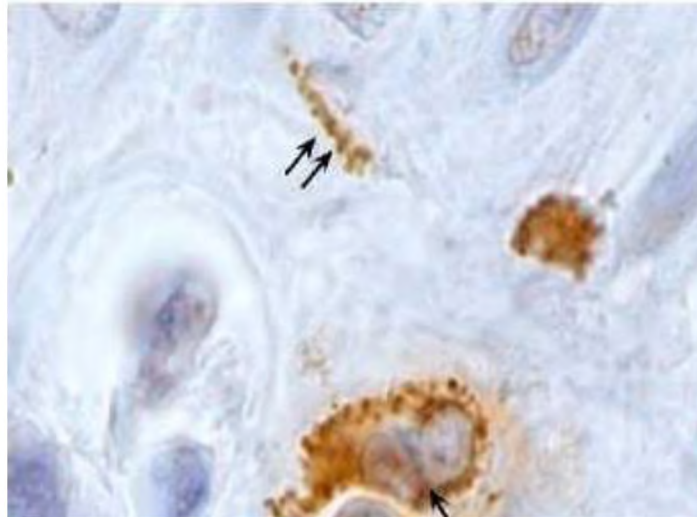


Рис. 4.14 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: контактування хімаза-містять ОК з близьким розташуванням ядер один до одного (вказано стрілкою вниз), хімаза-позитивні гранули та автономний протеаза-місткий фрагмент ТК в області базальної мембрани епідермісу (вказано подвійною стрілкою)

Інтенсифікувалися секреторні шляхи продуктів біосинтезу ОК у позаклітинний матрикс, про що свідчило суттєве скорочення представництва недегранульованих форм ОК. Відзначалося збільшення частоти виявлення триптаза- і хімаза-позитивних макровезикул у дермі, що досягають у ряді випадків великих розмірів. Іноді хімаза- та триптаза-позитивні гранули, вільно локалізуючись у позаклітинному матриксі, створювали великі поля, формуючи протеаза-позитивні території з відповідними індуктивними ефектами. (рис. 4.15-4.16).

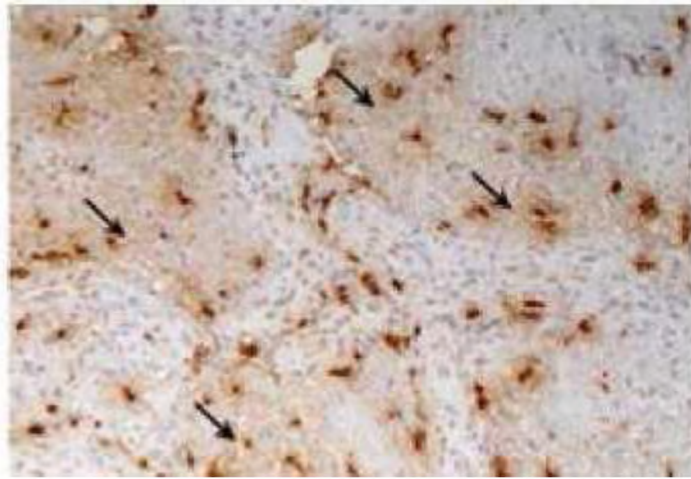


Рис. 4.15 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: збільшення обсягу популяції огрядних клітин, формування великих триптаза-позитивних територій у сітчастому шарі дерми (зазначено стрілками)

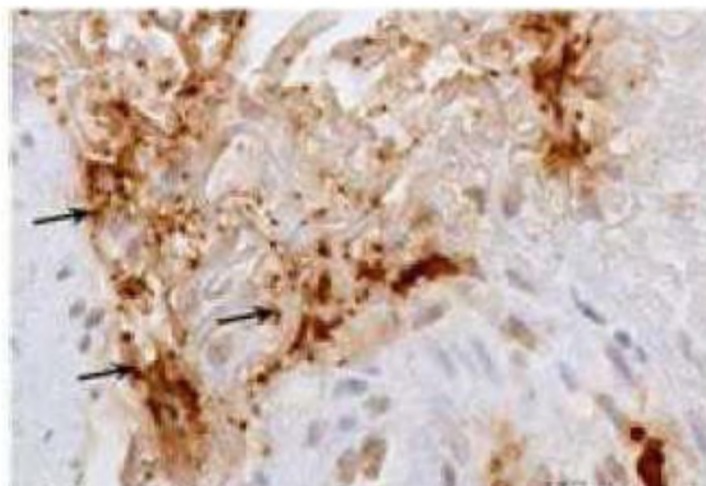


Рис. 4.16 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: дегрануляція ОК, у тому числі механізмом екзоцитозу, високий вміст триптаза-позитивних гранул у позаклітинному матриксі (зазначено стрілками), ремоделювання сполучної тканини дерми

ОК виявлялися в базальному та шипуватому шарі епідермісу, з активною секрецією протеаз у міжклітинний простір (рис. 4.17).

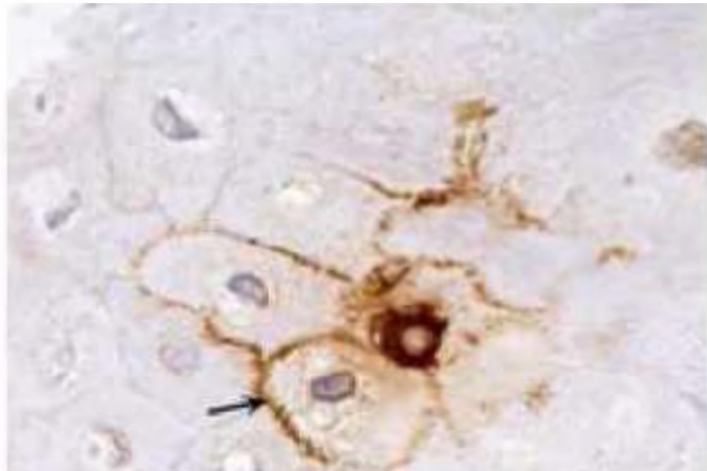


Рис. 4.17 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: міграція ОК у шипуватий шар епідермісу з активною секрецією триптази у позаклітинний простір (вказано стрілкою)

Крім того, ОК мігрували у верхні шари епідермісу, що не спостерігалось у шкірі без патологічних змін або з хронічною артеріальною недостатністю (рис. 4.18).

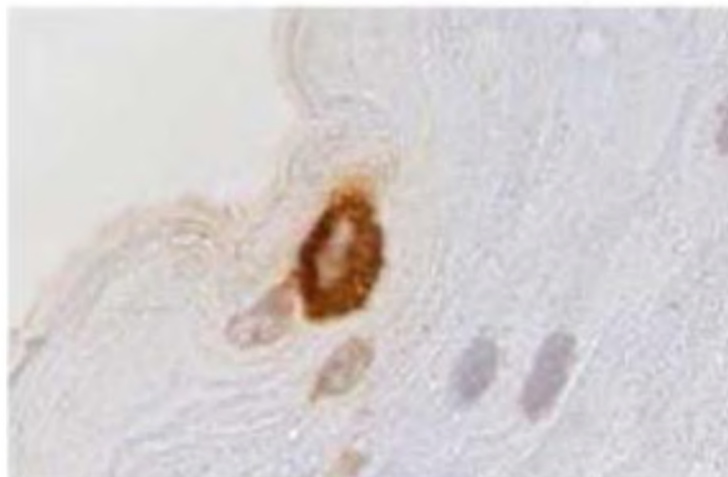


Рис.4.18 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на РТНЗ при ХВН: проникнення ОК у поверхневі шари епідермісу

Група пацієнтів з нейротрофічними РТНЗ характеризувалася найбільш вираженим зростанням обсягу популяції огрядних клітин у шкірі, а також

найбільшими розмірами. Крім того, ОК набували вираженого поліморфізму, зустрічалися як овальні, так і різко витягнуті клітини. (рис. 4.19-4.21).

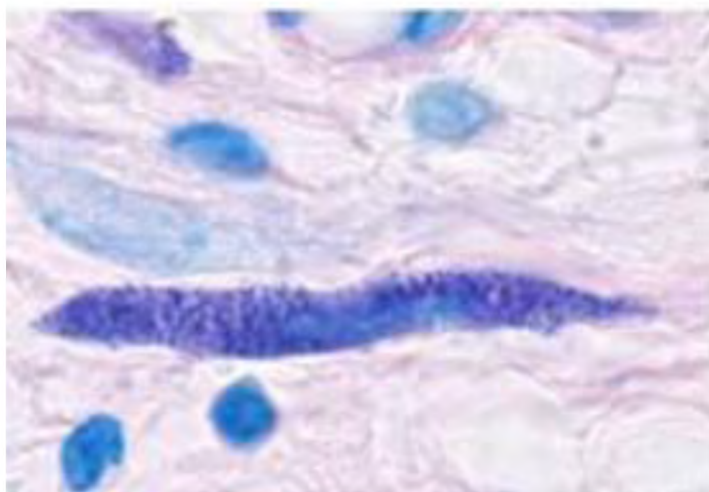


Рис. 4.19 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого при НТ РТНЗ: великі ОК веретеноподібної форми.

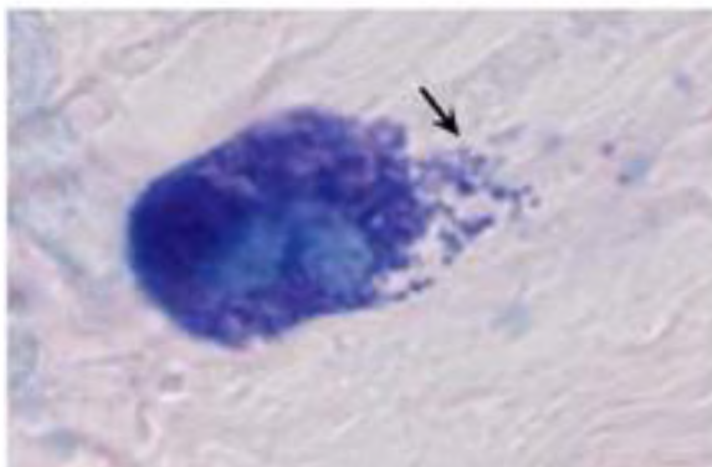


Рис. 4.20 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого при НТ РТНЗ: ознаки дегрануляції контактуючих ОК (зазначено стрілкою)

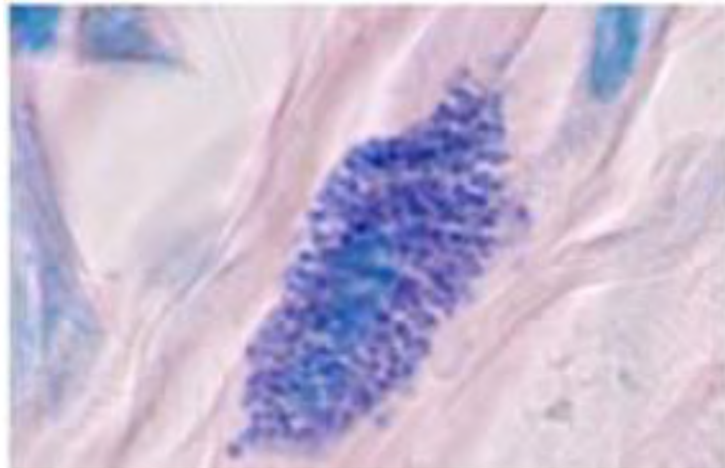


Рис. 4.21 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого при НТ РТНЗ: великі ОК овальної форми,

ОК рясно інфільтрували сполучну тканину дерми, що виявлялося при всіх протоколах фарбування (рис. 4.22).

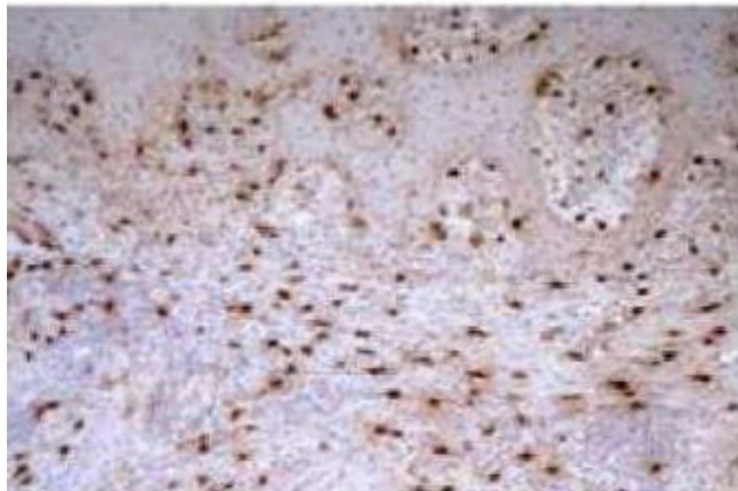


Рис. 4.22 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого на НТ РТНЗ: найбільш висока кількість ОК у шкірі

Більш того, триптаза-позитивні огрядні клітини виявлялися в епідермальному пласті, локалізуючись у міжклітинному просторі. Привертає увагу не тільки локалізація ОК в товщі епідермісу, а й інтенсивна секреція протеаз (рис. 4.23).

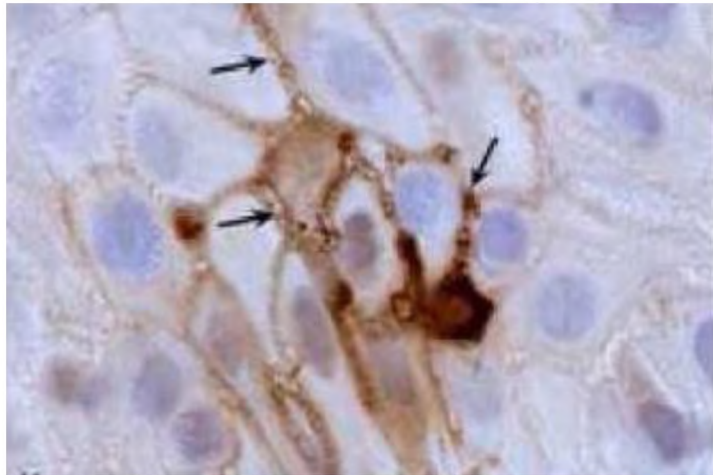


Рис. 4.23 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого з НТ РТНЗ: активна міграція ОК у шипуватий шар епідермісу та секрецією протеази у позаклітинний матрикс (вказано стрілками)

Активна дегрануляція триптази та хімази ОК призводила до роз'єднання клітин шипуватого шару один від одного, зменшуючи бар'єрну функцію епітеліального пласта (рис. 4.24).

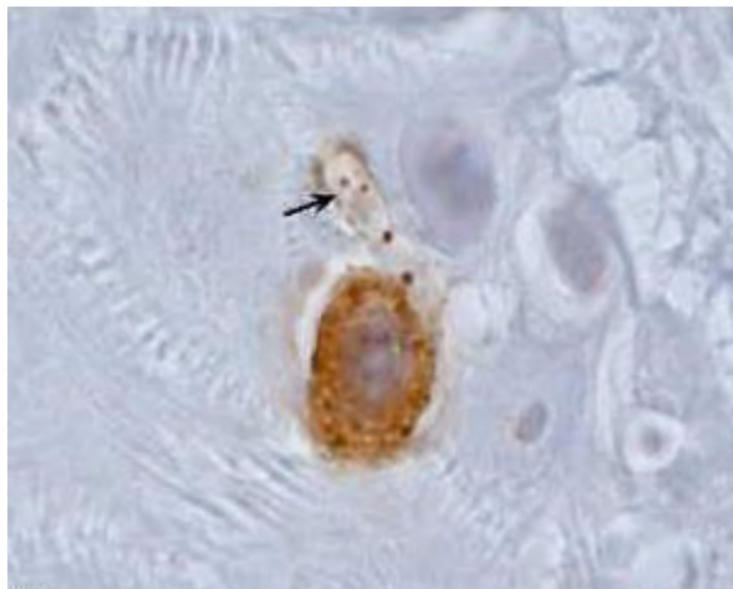


Рис. 4.24 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого з НТ РТНЗ: висока кількість хімаза-позитивних ОК у сосочковому шарі дерми шкірних країв рани, що активно секретують протеазу

Крім того, ОК локалізовані між недиференційованими клітинами базального шару епідермісу, що не спостерігалось у групі контролю. Зростала частота старанності ОК до базальної мембрани (рис. 4.25).

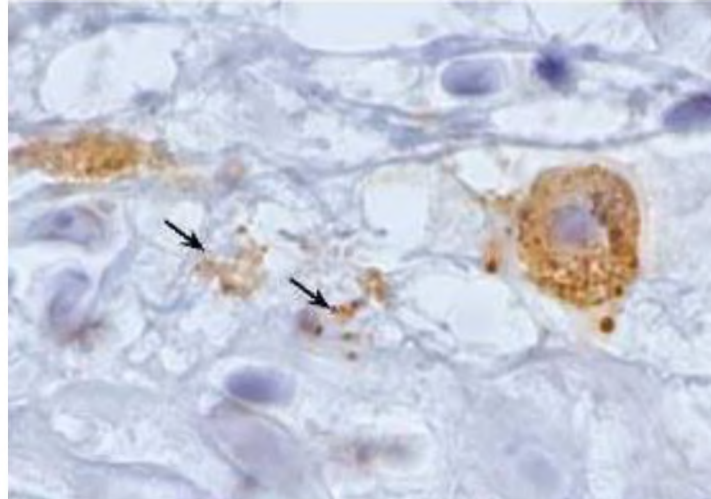


Рис. 4.25 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого з НТ РТНЗ: відмічаються міграція ОК в шипуватий шар епідермісу та активна секреція хімази (вказано стрілками)

У дермі зростала частота виявлення окремих протеаз-позитивних фрагментів ОК. Разом із зміною пулу протеаза-вмісних ОК в дермі шкірних країв рани відбувався шифт профілю експресії протеаз у бік зростання одночасної продукції триптази та хімази (рис. 4.26).

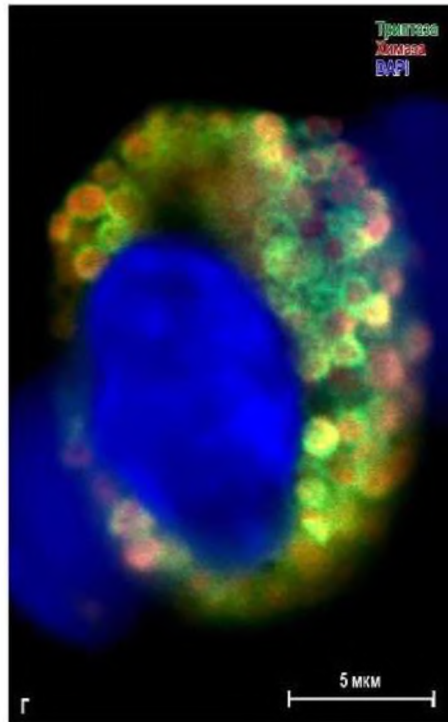


Рис. 4.26 Мікрофото препарату шкірних країв рани хворого з НТ РТНЗ: велика огрядна клітина з одночасною експресією триптази та хімази; виявляються гранули з хімазою, триптазою, а також з одночасним вмістом двох протеаз

Привертало увагу збільшення частоти солокалізації хімаза- позитивних і урежение триптаза-содержащих ОК проти іншими групами пацієнтів. При цьому виявлялися контактуючі ОК, ядра яких належали один до одного, практично стикаючись.

У проведеному дослідженні переконливо продемонстровано зростання експресії хімази у пацієнтів із РТНЗ, причому, особливі прояви отримано саме при вивченні препаратів й матеріалу, що було одержано від хворих із гнійними ранами - ГРТНЗ. Знайдені при цьому ознаки підвищеного вмісту колагенових та ретикулярних волокон після використання селективних методик фарбування підтверджують активність триптази щодо посилення формування позаклітинного матриксу та фіброзних змін.

З точки зору ефектів, що модулюються, хімази також необхідно вказати на її виражені прозапальні ефекти. Специфічні серинові протеази огрядних клітин працюють в парі, що еволюційно склалася, очевидно, взаємно доповнюючи один одного в разі необхідності. Субстратами хімази є компоненти позаклітинного матриксу, рецептори, білки, включаючи рецепторні, цитокіни та хемокіни..

Таким чином, виявлені молекулярно-біологічні особливості огрядних клітин при РТНЗ нижніх кінцівок різної етіології відкривають нові можливості в діагностиці ступеня прогресування запалення, оцінці масштабу розвитку патологічного процесу, моніторинг ефективності терапії, що проводиться, і свідчать про перспективність використання специфічних протеаз ОК в якості мішені для адресної терапії.

Результати проведеного дослідження підтверджують, що виявлення особливостей ультраструктурних перебудов ОК патологічно змінених тканин шкірних країв рани та розвиток змін їх ультраструктурної архітектоніки має не тільки теоретичне, а й безперечно практичне значення, оскільки результати цих досліджень є основними в тактиці проведення комплексного хірургічного лікування хворих на ГРТНЗ.

Отримані дані, що виявили високу інформативність проведеного імуно-гістохімічного дослідження субклітинної організації ОК епідермісу, дерми і підлеглих тканин, які дозволили встановити послідовність глибини пошкоджень зазначених шкірних структур ран, свідчать про те, що найбільш глибоким ушкодженням піддаються клітини епідермісу і лише потім - клітини дерми та підлягаючих тканин.

Враховуючи, що при проведенні імуно-гістохімічного дослідження можна виявляти початкові ушкодження органів, слід припустити, що надалі гіпоксія тканин шкірних структур посилюється і ступінь виразності цих порушень зберігає таку саму послідовність.

Новизною проведеного імуно-гістохімічного дослідження є комплексність всіх клітинних складових ОК шкірних структур, що вивчалися, і ультраструктурної організації мікроциркуляторного русла.

Другий аспект новизни полягає у пріоритетності порушень біоенергетичних процесів, що викликали зміни ОК та пов'язані з включенням механізмів компенсації.

Таким чином, проведені дослідження розширили уявлення про патогенез формування осередків гнійного запалення та деструктивних змін тканин рани, підтвердили пріоритетність метаболічних порушень у клітинних мішенях при РТНЗ, дозволили дати прогностичну оцінку подальшого перебігу патологічного процесу та обґрунтувати тактику ведення хворих даної категорії.

## РОЗДІЛ 5

### ВИБІР МЕТОДУ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ ХРОНІЧНИХ РАН НИЖНІХ КІНЦІВОК, ЩО ТРИВАЛО НЕ ЗАГОЮЮТЬСЯ

Досягти позитивного ефекту лікування пацієнта з довгостроково незагоєною раною можливо тільки, якщо розірвати ланцюг патологічних змін і ліквідувати причину появи ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються (РТНЗ). Не підлягає обговоренню, що радикальне лікування основного захворювання у більшості випадків гарантує загоєння ранового дефекту у хворих із РТНЗ.

Однак найчастіше радикальне лікування є неможливим (ПТФХ, дистальне ураження артеріального русла з хронічною критичною ішемією, нейротрофічні виразки і т.п.) і місцева терапія – це єдиний метод впливу на рановий процес при РТНЗ. У будь-якому випадку підхід до лікування хворих із РТНЗ повинен бути мультидисциплінарним, що включає як консервативні, так і сучасні хірургічні методи.

Численні методи діагностики і терапії, що використовують в даний час, дозволяють значно поліпшити результати хірургічного лікування РТНЗ, проте вони не позбавлені деяких недоліків. У зв'язку з цим актуальною є розробка і впровадження нових підходів і сучасних методів діагностики патологічних змін і впливу на рановий процес із використанням сучасних розробок й технологій.

Лікування ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються (РТНЗ), включає різноманітні комплексні методи хірургічного лікування, в тому числі шляхом лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел» разом із використанням методу локального негативного тиску: зневоднення за допомогою так званої ВАК-терапії, тобто вакуум-терапевтичного закриття (VAC) [18-20, 123].

Незважаючи на відсутність консенсусу щодо визначення, більшість ран називають гострими, якщо вони присутні лише протягом короткого періоду часу до втручання (<4 тижнів до максимум 6 тижнів) і мають ознаки нормального загоєння ран. Хронічними визначаються рани, що наявні від одного місяця до 6 тижнів до втручання без будь-якої тенденції до нормального загоєння. Ці рани заживають довго, не повністю або часто повторюються [12, 99].

В клініці проведено ретро- та проспективне дослідження, що включало огляд даних, які було зібрано у 107 пацієнтів і РТНЗ обох статей середнього віку 59,8 років, що знаходилися на стаціонарному лікуванні у хірургічному відділенні КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня» з 2020 по 2024 рр.

З метою вивчення ефективності комбінованого використання традиційної базисної терапії і нових схем лікування усіх пацієнтів було розподілено на 3 клінічних групи. Так, до I групи порівняння було включено 38 (35,05 %) пацієнтів із РТНЗ, які отримали базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію та місцеве використання 0,02% розчину Декасана.

У II групу порівняння увійшли 33 (30,92 %) хворих із РТНЗ, за схемою, що включала базисне лікування: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана із додаванням препарату «Гемокорд-Кріоцелл» на протязі 7 діб.

В основну групу увійшли 36 (34,01 %) хворих із РТНЗ, що отримали комплексне лікування за схемою, методику якої було розроблено у клініці: базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана, із лікуванням медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» на протязі 7 діб, а також додатково сеанси VАС-терапії на протязі 5 діб.

Критеріями включення до лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» сумісно з VАС-терапією були: наявність хронічних незагойних ран, що вимагало хірургічного втручання; площа рани

>50 см<sup>2</sup>; наявність ознак системної запальної реакції та розладів інших систем внаслідок інтоксикації.

Критеріями невиключення були: наявність злоякісних новоутворень і передракових захворювань шкіри й внутрішніх органів в анамнезі та на момент огляду, супутні захворювання, включно психічні а також протипоказання до призначення препаратів, що входять до терапевтичних схем лікування. Критерії виключення пацієнта з дослідження (що планувалося використовувати): прояви небажаних явищ, що пов'язані із терапією або невиконанням режиму призначеної схеми терапії, але хворих виключених із дослідження у зв'язку з небажаними явищами, пов'язаними із розробленою терапією, не було. Під час надходження всі пацієнти проходили клінічний та біохімічний аналіз крові, оцінювали функціональний стан серцево-судинної, дихальної, сечовидільної систем, а також функції печінки.

Після хірургічної обробки гнійного осередку пацієнтам основної групи застосовували VAC-терапію в безперервному режимі з вакуумом 125 мм рт. ст. зі зміною пов'язки через 48-72 години. На підготовлену ранову поверхню наносили пористий поліуретановий матеріал, вирізаний точно по контуру рани, щоб розміри та контури ранового покриву відповідали контурам ранового дефекту на всіх згинах кінцівок.

Пов'язку готували, переносили та випрямляли на рівній поверхні, яку попередньо сфотографували за допомогою цифрової камери разом із заздалегідь визначеним стандартом площі, для якої в якості маркера використовували сантиметрову лінійку. Для розрахунку площі рани отримане зображення ранового покриву обробляли за допомогою комп'ютерної програми IpSquare. На рану накладали підготовлену вакуумну пов'язку та проводили вакуумну терапію [10].

На рис. 5.1 наведено загальний вигляд апарату для ВАК-терапії, що використовували у клініці при лікуванні хворих із РТНЗ.



Рис. 5.1 Загальний вигляд апарату Renasis Go фірми Smith & Nephew (USA) для ВАК-терапії, що використовували у клініці при лікуванні хворих із РТНЗ

Налаштування VAC з урахуванням характеру РТНЗ представлено у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

### Налаштування VAC з урахуванням характеру РТНЗ

| Характеристики                               | Налаштування  |
|--|---|
| Гострі виразки та рани                       | 125 мм рт.ст. – негативний тиск протягом 4-5 днів   |
| Хронічні виразки та рани                     | Безперервна терапія при негативному тиску 50-70 мм рт.ст.   |
| Скомпрометовані клапті тканин (tissue flaps) | 125 мм рт.ст. – безперервна терапія до досягнення базової адгезії   |
| Зміна пов'язки                               | Рекомендовано:<br>Інтервал 3-5 днів або залежно від кількості або характеристики виведеної рідни, а також зовнішнього вигляду шкіри (запалення, мацерації, інше)<br>Використовували:<br>Зміну пов'язки через 48-72 години |

Бактеріологічні дослідження зразків біопсії із порожнини РТНЗ включали якісний (видовий) та кількісний аналізи мікрофлори в м'яких тканинах. Ідентифікація ізольованих мікроорганізмів проводилася на основі їх морфологічних характеристик. Рівень бактеріального забруднення РТНЗ визначали в 1 г тканини рани. Бактеріальне забруднення тканин рани з обох груп становило в середньому  $6,84 \pm 0,67$  КУО / мл за логарифмічною шкалою.

Після надходження до клініки, згідно з клінічними аналізами виражених запальних змін, лейкоцити в середньому становили  $13,5 \pm 2,2 \times 10^9$  / л (від 9,6 до 14,8). Результати мікробіологічних досліджень відтоків ран, зроблених під час хірургічного лікування гнійних осередків РТНЗ, були важливим критерієм, в тому числі для використання раціональної антибіотикотерапії. Різні мікроорганізми виділяли з рани як у монокультурі, так і в асоціаціях.

Вихідні дані виглядали наступним чином. Так, провідне місце серед усіх хворих із РТНЗ посідали грампозитивні мікроорганізми: *Staphylococcus aureus* and *St. epidermidis*- у 66 (61,68%) пацієнтів; грамнегативна мікрофлора була представлена *E. coli* - 21 (19,62%), *Enterobacter* – у 5 (4,67%), *P. aeruginosa* - у 2 (1,86%). У 13 (12,14%) пацієнтів основної групової культури від ран мікроорганізмів виявлено не було.

Рівень бактеріального забруднення в 1 г тканини РТНЗ становив  $6,84 \pm 0,67$  CFU/ml,  $6,53 \pm 0,48$  CFU/ml,  $5,78 \pm 0,87$  CFU/ml у всіх пацієнтів досліджуваних груп ( $P_1=0,007$ ,  $P_2=0,000$ ,  $P_3=0,000$ ). При цьому в I групі порівняння найчастіше виявляли *S. aureus* та *Staphylococcus epidermidis* - у 29 (76,31%) пацієнтів, а також *Providencia* - у 3 (7,89%), *P. aeruginosa* - у 1 (2,63%), *Ентеробактер* - у 2 (5,26%), *Протей* - у 2 (5,26%), кишкова паличка - у 1 (2,63%). Площа РТНЗ на початковому етапі лікування становила в середньому  $34,22 \pm 4,17$  см<sup>2</sup>,  $54,43 \pm 4,12$  см<sup>2</sup> та  $58,34 \pm 3,1$  см<sup>2</sup> ( $P_1=0,000$ ,  $P_2=0,000$ ,  $P_3=0,000$ ). Після проведеної комплексної терапії результати на 7 добу були такими. Рівень бактеріального забруднення становив  $4,72 \pm 0,62$  CFU/ml,  $3,65 \pm 0,73$  CFU/ml та  $2,89 \pm 0,43$  CFU/ml відповідно в трьох досліджуваних групах хворих ( $P_1=0,000$ ,  $P_2=0,000$ ,  $P_3=0,000$ ). Площа ран зменшилась і становила: в основній групі

порівняння –  $32,7 \pm 11,14$  см<sup>2</sup>; в II групі порівняння –  $46,54 \pm 10,56$  см<sup>2</sup>; в I групі порівняння –  $55,67 \pm 10,56$  см<sup>2</sup>. У середньому у хворих основної групи застосовували  $1,4 \pm 0,11$  VAC-пов'язки ( $P=0,002$ ).

За цей період лікування хворих площа ран становила в середньому  $46,54 \pm 10,56$  см<sup>2</sup>. Лише у пацієнтів I групи порівняння площа рани становила  $55,67 \pm 10,56$  см<sup>2</sup> на 10-й день лікування. З 38 пацієнтів I групи порівняння VAC-терапія проводилася один раз у 4 (10,52%) пацієнтів, двічі у 11 (28,94%) пацієнтів та тричі у 23 (60,52%) пацієнтів. У середньому пацієнту застосовували  $1,4 \pm 0,11$  пов'язки місцевого негативного тиску. Із 36 пацієнтів основної групи VAC-терапію застосовували один раз у 7 (19,44%) пацієнтів та двічі - у 29 (80,56%) пацієнтів. У середньому пацієнтам II групі порівняння групи застосовували VAC-пов'язки  $1,2 \pm 0,1$  рази та в основній -  $1,13 \pm 0,08$  разів ( $p = 0,002$ ). Тривалість VAC становила від 2 до 10 днів, що в середньому  $6,3 \pm 0,32$  дня. Середня кількість перев'язок на одного пацієнта становила склало  $13,4 \pm 1,12$  у II групі порівняння,  $1,84 \pm 0,34$  – в основній та у I групі порівняння ( $p = 0,000$ ).

Далі наводимо клінічні приклади результатів застосування ВАК-терапії в клініці (рис. 5.2-5.5).

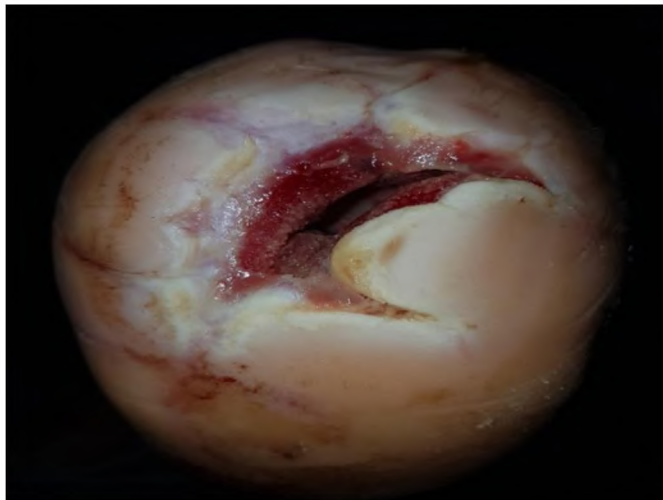


Рис. 5.2 Вигляд рани у хворого із РТНЗ до проведення ВАК-терапії



Рис. 5.3 Накладення ВАК-пов'язки і підключення до апарату



Рис. 5.4 ВАК-пов'язку накладено вдруге на 3 доби



Рис. 5.5 Вигляд рани після двох накладень ВАК-пов'язки терміном по три доби

При веденні пацієнтів з РТНЗ з використанням ВАК-терапії на інших ВАК-пристроях також були отримані ефективні результати лікування, що демонструють наступні клінічні приклади (рис. 5.6-5.15).



а

б

Рис. 5.6 Інфікована рана правої пахвинної ділянки з переходом до стегна: а) встановлення ВАК; б) рана на 8-й день лікування була підготовлена для утворення вторинних швів



а

б

Рис. 5.7 Широка гнійно-некротична РТНЗ правого стегна: а) установка ВАК; б) тип рани на 14-й день лікування; в) пластичне закриття рани



Рис. 5.8 Хвора Б., 47 років: Вигляд хронічної післяопераційної рани правої підсідничної ділянки з розповсюдженням на верхню третину стегна, підготовленої до ВАК-терапії (права нижня кінцівка піднята догори)

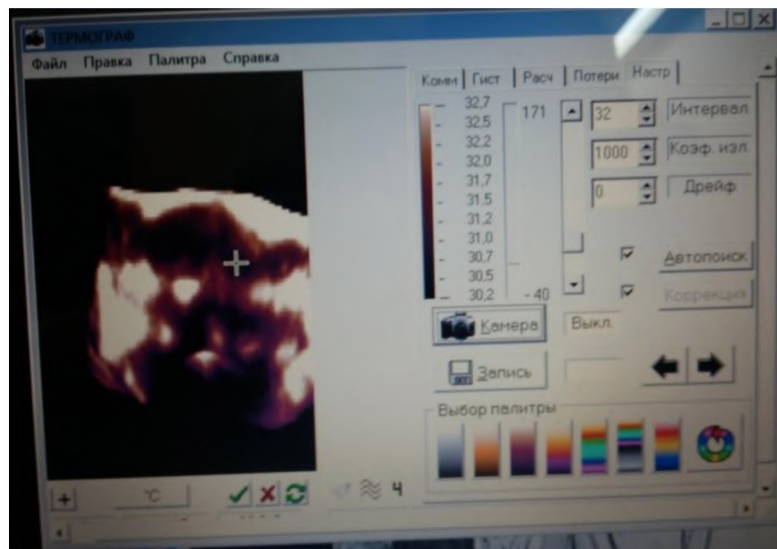


Рис. 5.9 Хвора Б., 47 років: вихідні показники розповсюдження температурного режиму РТНЗ перед початком ВАК-терапії



Рис. 5.10 Хвора Б., 47 років: Вигляд хронічної післяопераційної рани правої підсідничної ділянки з розповсюдженням на верхню третину стегна, після проведення I етапу ВАК-терапії

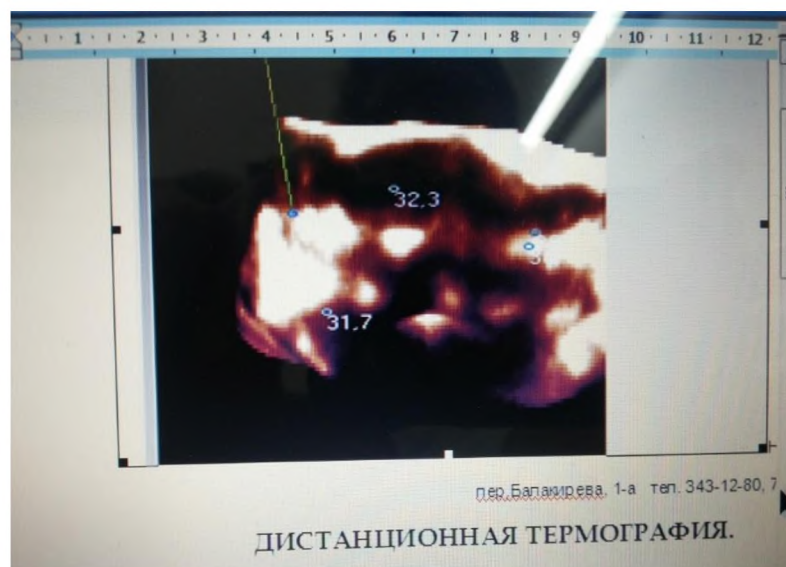


Рис. 5.11 Хвора Б., 47 років: показники розповсюдження температурного режиму РТНЗ після проведення після проведення I етапу ВАК-терапії



Рис. 5.12 Хвора Б., 47 років: Вигляд хронічної післяопераційної рани правої підсідничної ділянки з розповсюдженням на верхню третину стегна, після проведення II етапу ВАК-терапії до сняття ВАК-пов'язки



Рис. 5.13 Хвора Б., 47 років: показники розповсюдження температурного режиму РТНЗ після проведення після проведення II етапу ВАК-терапії після видалення ВАК-пов'язки

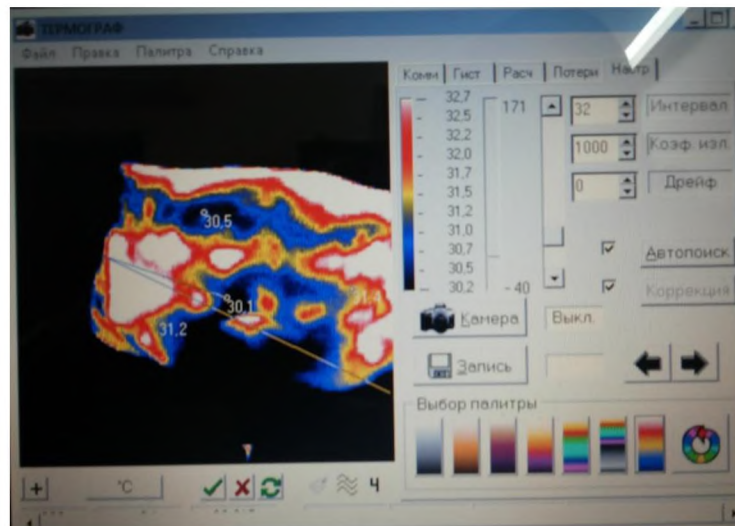


Рис. 5.14 Хвора Б., 47 років: показники розповсюдження температурного режиму РТНЗ після проведення після проведення II етапу ВАК-терапії



Рис. 5.15 Вигляд післяопераційних гіпотрофічних рубців у той же хворій через 1 рік після лікування

Наведені клінічні приклади наглядно продемонстрували ефективність ВАК-терапії в лікуванні РТНЗ, особливо хронічних й трофічних виразок.

На підставі проведеного клінічного дослідження слід зазначити, що на сучасному етапі надання хірургічної допомоги хворим цієї категорії, хірургічне лікування різних ран із використанням негативного тиску (NTWP) є методом вибору та широко застосовується в клінічній практиці у пацієнтів з гострими та хронічними РТНЗ, коли джерело вакууму створює постійний або періодичний негативний тиск усередині рани, що сприяє видаленню рідини та інфекційних субстратів, загоєння та закриття ран [13, 123].

При лікуванні важких РТНЗ вирішуються дві взаємопов'язані задачі: це придушення мікробного збудника інфекції та створення сприятливих умов для загоєння дефекту рани. Складовими програми лікування є: хірургічне очищення вогнища інфекцій, антибактеріальна терапія, дезінтоксикаційна та інфузійно-трансфузійна терапія, повноцінна харчова підтримка тощо.

Також слід підкреслити, що локалізоване тривале використання негативного тиску є одним з нових методів, що застосовується при лікуванні РТНЗ.

При цьому VAC-терапія зменшує інтенсивність рани, допомагаючи підтримувати вологе середовище в рані, створюючи оптимальні умови загоєння. Методологія заснована на використанні спеціальних губок та вакуум-генератора, який створює негативний тиск у рані, в результаті чого видаляється патологічний ексудат, зменшується бактеріальне навантаження на рану та стимулюється ріст грануляційної тканини та епітелію.

Однією з причин зміни тактики лікування на користь використання шкірних трансплантатів є розвиток великої кількості ускладнень під час загоєння ран, а також неможливість повноцінного використання ніг цими пацієнтами під час ходьби.

При тривалому існуванні дефекту ймовірність повторного зараження зростає в рази. Терміни хірургічного закриття дефектів шкіри у пацієнтів із РТНЗ залежать від тяжкості гнійно-некротичних уражень, площі ураження та компенсації супутньої патології.

Під час ВАК-терапії відбувається активне видалення надлишку ранового ексудату, включаючи видалення речовин, що уповільнюють процес загоєння рани. Як показали наші дослідження, усунення бактеріального забруднення та зменшення рани значно прискорюються. Говорячи про економічну вигоду від терапії ВАК, слід звернути увагу на вакуумну пов'язку. Застосування цього методу лікування знижує ймовірність повторного зараження рани, що позбавляє від необхідності частого перев'язування протягом тривалого періоду, та повторних звернень до лікарні, що також знижує ризик вторинного інфікування РТНЗ лікарняними штамми мікроорганізмів. Крім того, тривалість системної антибіотикотерапії скорочується, що призводить до значної економії коштів на лікування.

Застосування методу локального негативного тиску в комплексному лікуванні пацієнтів з РТНЗ сприяє скороченню тривалості фаз перебігу ранового процесу, ранній деконтамінації тканин і швидкому скороченню розмірів ранових дефектів.

Отримані результати свідчать про високу ефективність та безпечність застосування методу локального негативного тиску при РТНЗ. VAC-терапія може вважатися найкращим засобом лікування хронічних ран, але потрібні подальші дослідження з більшою кількістю пацієнтів, перш ніж вакуумну пов'язку сміливо можна додати до широкого спектру методів комплексного лікування РТНЗ.

Таким чином, на підставі проведеного дослідження слід підкреслити, що використання терапії на основі запропонованої і розробленої нової сучасної схеми комплексного патогенетичного лікування, включно із сумісним застосуванням у лікувальному процесі медичного імунобіологічного препарату кордової крові людини «Гемокорд-Кріоцелл» разом із проведенням VAC-терапії у пацієнтів з РТНЗ, сприяє прискореному очищенню рани, її знезараженню, усуває запалення, зменшує її розмір та мінімізує ризик збільшення вартості лікування внаслідок приєднання вторинної інфекції.

В заключенні слід підкреслити, що завдяки клінічному використанню розробленої нової сучасної схеми комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ досягнуто сприятливих результатів і більш високої лікувально-терапевтичної ефективності, а саме: відсоток появи грануляцій був достовірно вище з п'ятої доби лікування, а кількість некротичних тканин у рані – ставала явно нижчою з десятої доби лікування, що підтверджено методом комп'ютерного моніторингу; достовірне скорочення числа перев'язок склало з 10,7 до 5,0 на одного хворого, тенденція до зменшення кількості некретомій з 1,1 до 0,7, що в результаті реально позначилося на зменшенні тривалості перебування в стаціонарі. При цьому середній термін госпіталізації пацієнтів в основній групі становив  $13,2 \pm 1,0$  к/д, а середнє значення в групах порівняння -  $17,9 \pm 1,1$  к/д ( $p < 0,01$ ), тобто в 1,5 разів.

**РОЗДІЛ 6**  
**РОЗРОБКА МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ ІЗ РТНЗ Й**  
**ДИНАМІКА ІМУНОЛОГІЧНИХ І БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ**  
**ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОГО ЛІКУВАННЯ**

**6.1 Розробка і клінічне використання нових схем комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ та моніторингу результатів їх проведення**

Основна мета комплексного хірургічного лікування РТНЗ – уповільнити прогресування хвороби, досягти максимальної стабілізації процесу, а далі регресу клінічної картини. Хворі з РТНЗ повинні отримувати комплексне, патогенетично обґрунтоване диференційоване лікування, з урахуванням клінічної форми, стадії, лабораторних показників, індивідуальних особливостей хворого.

Базисна терапія передбачала застосування антибактеріальних, антифіброзних, дезінтоксикаційних, вазоактивних, нестероїдних протизапальних препаратів, гепатопротекторів, вітамінів за стандартними методиками. Місцево накладали топічні протизапальні, розсмоктуючі засоби. Також в лікуванні хворих на РТНЗ використовували фізіотерапевтичні методи.

Запропонований метод хірургічного лікування хворих із РТНЗ, які отримували комплексну терапію з використанням препарату «Гемокорд-Кріоцелл» та місцеvu ВАК-терапію на тлі базисного лікування, отримали 36 (34,01 %) хворих основної групи зі 107 пацієнтів із РТНЗ.

Було розроблено препарат «Гемокорд-Кріоцелл», який пройшов клінічний іспит і має фармакологічні ефекти, що обумовлені комплексним впливом речовин, які входять до складу його компонентів.

Препарат стимулює дихання й енергоутворення у клітинах, поліпшує процеси утилізації кисню тканинами, відновлює активність ферментів антиоксидантного захисту. Препарат активує внутрішньоклітинний синтез білка, сприяє утилізації глюкози, жирних кислот і ресинтезу в нейронах  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК) через шунт Робертса.

Слід зауважити, що від стану сполучної тканини (СТ) в організмі залежить ймовірність розвитку різних фаз й стадій РТНЗ, у зв'язку з чим нами було проведено дослідження з виявлення особливостей структурно-метаболического стану СТ у хворих РТНЗ всіх досліджуваних груп.

Для цього за методикою клініки було розроблено «Спосіб клініко-лабораторного моніторингу проведення комплексного хірургічного лікування» із визначенням вмісту ГАГ, активності ферментів еластази та КЛА сироватки крові за сумарною кількістю вільного та пептидно-зв'язаного оксипроліну.

Так, після проведеного лікування у хворих із РТНЗ I та II груп порівняння виявили високу активність рівнів еластази ( $45,5 \pm 11,6$ ;  $40,6 \pm 9,2$  і  $39,4 \pm 8,7$  пг/мл), що перевищувало показники групи умовно-здорових донорів, відповідно в 1,6; 1,5 і 1,4 рази відповідно. У хворих основної групи після лікування цей показник був збільшеним в 1,3 рази в порівнянні з референтними значеннями умовно-здорових донорів (табл. 6.1, рис. 6.1).

Вміст ГАГ був підвищеним у всіх досліджуваних групах. Максимальне дворазове збільшення вмісту ГАГ виявили в групах хворих із РТНЗ до лікування -  $48,5 \pm 5,4$  мкмоль/л. Після проведеного лікування у хворих із РТНЗ групи порівняння цей показник перевищував рівень референтних значень групи умовно-здорових донорів в середньому в 1,4 рази.

При цьому в основній групі вміст ГАГ перевищував рівень референтних значень групи умовно-здорових донорів на 18%. КЛА плазми крові мала схожу динаміку, не залежала від статі і добре корелювала з показниками активності еластази.

Таблиця 6.1

**Вміст глікозаміногліканів і активність еластази в плазмі крові  
хворих із РТНЗ до лікування і в залежності від одержуваної терапії**

| Досліджувані групи                   | Показники, М±m   |                               |
|--------------------------------------|------------------|-------------------------------|
|                                      | Еластаза (пг/мл) | Глікозаміноглікани (мкмоль/л) |
| Контрольна група<br>(здорові донори) | 27,3±1,8         | 35,84±1,2                     |
| Хворі із РТНЗ до<br>лікування        | 45,5±11,6        | 48,5±5,4                      |
| Хворі із РТНЗ після лікування        |                  |                               |
| Основна група                        | 36,8±6,4         | 44,1±2,5                      |
| I група порівняння                   | 40,6±9,2         | 47,6±8,4                      |
| II група порівняння                  | 39,4±8,7         | 45,6±4,3                      |

*Примітка:* \* - вірогідність відмінностей  $P \leq 0,05$

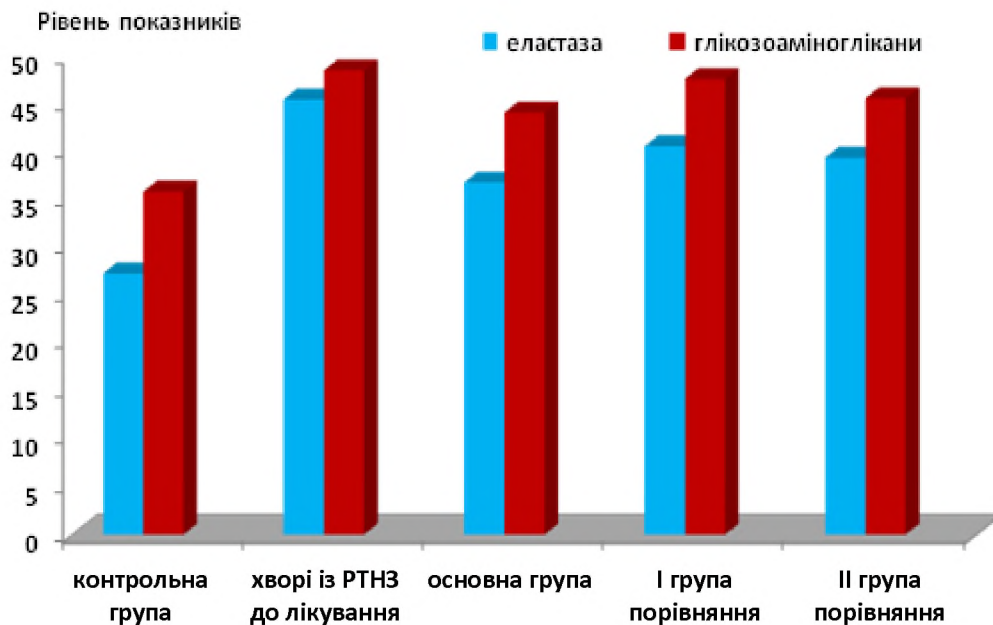


Рис. 6.1 Вміст глікозаміногліканів і активність еластази в плазмі крові хворих із РТНЗ до лікування і в залежності від проведеної терапії

Динаміку рівня оксипроліну у хворих із РТНЗ та умовно-здорових донорів представлено на рис. 6.2 та у табл. 6.2.

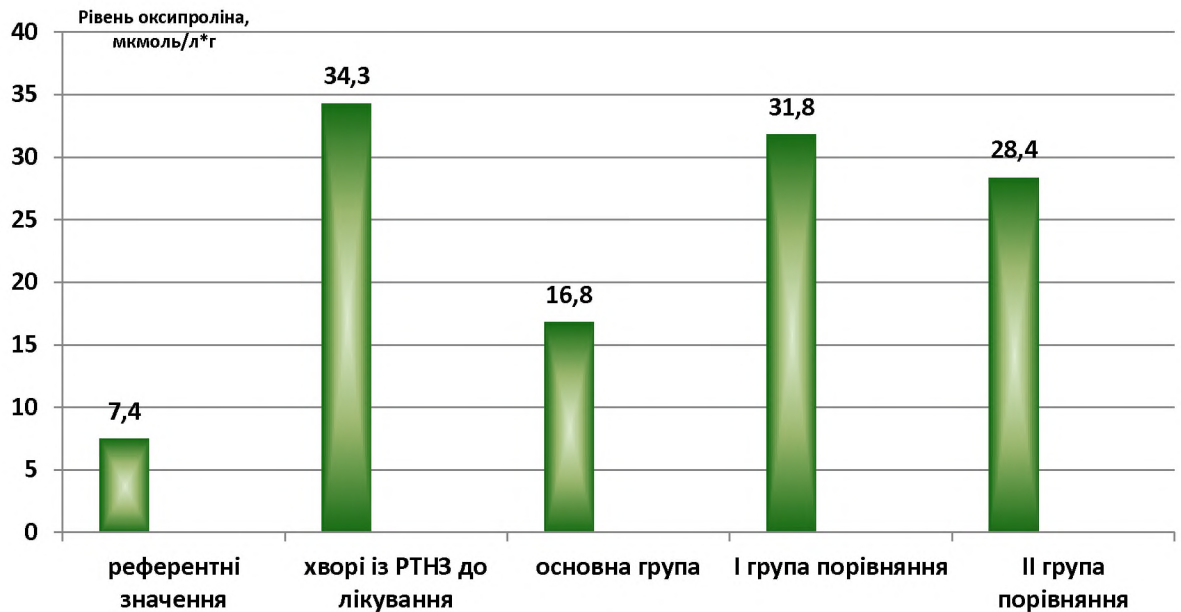


Рис. 6.2 Динаміка рівня оксипроліну у хворих із РТНЗ та умовно-здорових донорів

Таблиця 6.2

**Динаміка рівню колагенолітичної активності плазми крові  
(за оксипроліном) у хворих із РТНЗ до- і після лікування**

| Стадія патологічного процесу                | КЛА крові, М±m<br>(мкмольоксипроліна/л·г) |
|---|---|
| Контрольна група<br>(умовно-здорові донори) | 7,4±0,6                                   |
| Хворі із РТНЗ до лікування                  | 34,3±3,6*                                 |
| Хворі із РТНЗ після лікування               |   |
| Основна група                               | 16,8±6,4                                  |
| I група порівняння                          | 31,8±4,3*                                 |
| II група порівняння                         | 28,4±3,5                                  |

Примітка: \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Як видно з даних рис. 6.2 і табл. 6.2 найбільш високі значення оксипроліна виявилися у пацієнтів із РТНЗ до лікування, в I групі порівняння та II групі

порівняння ((34,3±3,6), (31,8±4,3) и (28,4±3,5) мкмоль оксипролина/ л/г відповідно).

Колагенолітична активність плазми крові у хворих основної групи була підвищеною в два рази, що значно нижче ніж рівень даного показника у пацієнтів I і II груп порівняння.

Рівень КЛА в плазмі крові у пацієнтів із РТНЗ до лікування перевищував дані умовно-здорових пацієнтів, що свідчить про важливе діагностичне і прогностичне значення цього показника при визначенні локалізації і ступеня вираженості запалення в осередках РТНЗ.

Таким чином, результати проведеного дослідження виявили низку особливостей біохімічних показників й свідчать, що перебіг ранового процесу у хворих із РТНЗ в прогресуючій стадії супроводжувався порушеннями метаболічного обміну сполучної тканини, які пов'язані з активацією протеїназ і накопиченням в сироватці крові глікозоаміногліканів.

Високий кореляційний зв'язок між динамікою активності еластази, колагенолітичною активністю (за оксипроліном) та вмістом глікозоаміногліканів сироватки крові при РТНЗ дозволяє використовувати ці показники для диференційної діагностики й вибору комплексної терапії, як прогностично значущих в динаміці патогенетичного лікування, що забезпечує підвищення ефективності його проведення.

## **6.2 Особливості змін біохімічних показників в динаміці у хворих із РТНЗ після проведення лікування**

Після проведеного лікування у пацієнтів основної групи на 5 добу спостерігали зниження концентрація СРБ до (18,2±2,1) г/л, тоді як в I та II групах порівняння зниження даного показника було менш вираженим - до 23,1±2,3 г/л та 22,5±3,0 г/л відповідно.

На 7 добу після проведеного лікування у пацієнтів основної групи концентрація СРБ позитивно знижувалася до рівня в середньому 12 г/л, що було на 33% і на 25% нижче, ніж в I та II групах порівняння відповідно. У

групах порівняння концентрація СРБ достовірно не відрізнялася від основної групи хворих із РТНЗ до лікування, і перевищувала референтні показники контрольної групи в середньому в 3 рази, що свідчить про перебіг гострої фази запального процесу (рис. 6.3).



Рис. 6.3 Дослідження рівня С-реактивного білка після лікування у хворих досліджуваних групі з РТНЗ й умовно-здорових донорів

Результати дослідження рівня концентрації магнію і хлору у хворих із РТНЗ в залежності від перебігу захворювання після лікування наведені в табл. 6.3.

На 5 добу після проведеного лікування у хворих основної групи концентрація магнію мала позитивну тенденцію до зниження, тоді як вміст хлору, що був в даній групі нижче референтних значень – підвищувався (табл. 6.3).

На 7 добу після лікування вміст магнію і рівень хлору в сироватці крові хворих основної групи достовірно не відрізнявся від контролю – було виявлено позитивне зниження концентрації магнію (в середньому в 1,4 рази) і підвищення рівня хлору (в 1,1 рази), ніж в групах порівняння (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Показники рівня магнію й хлора у хворих із РТНЗ досліджуваних груп**

| Показники                                | Магній, ммоль/л |            | Хлор, ммоль/л |           |
|--|-----------------|------------|---------------|-----------|
|  | 5 доба          | 7 доба     | 5 доба        | 7 доба    |
| Досліджувані групи                       |                 |            |               |           |
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | 0,76±0,18       |            | 104,50±7,50   |           |
| Хворі із РТНЗ до лікування               | 1,4±0,21        |            | 95,5±4,83     |           |
| Хворі із РТНЗ після лікування            |                 |            |               |           |
|  | 5 доба          | 7 доба     | 5 доба        | 7 доба    |
| Основна група                            | 1,10±0,13       | 0,91±0,12  | 98,4±4,1      | 100,3±3,9 |
| I група порівняння                       | 1,30±0,50*      | 1,28±0,62* | 96,2±4,9      | 97,6±5,7  |
| II група порівняння                      | 1,36±0,42*      | 1,34±0,36* | 95,8±5,1      | 96,7±4,9  |

*Примітка:* \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

На 5 добу після проведеного лікування у хворих основної групи концентрація магнію мала позитивну тенденцію до зниження, тоді як вміст хлору, що був в даній групі нижче референтних значень – підвищувався (табл. 6.3).

На 7 добу після лікування вміст магнію і рівень хлору в сироватці крові хворих основної групи достовірно не відрізнявся від контролю – було виявлено позитивне зниження концентрації магнію і підвищення рівня хлору (табл. 6.3).

У сироватці крові хворих I і II груп порівняння після проведеного лікування не спостерігали значного зниження вмісту магнію, який від початку до лікування був підвищеним у хворих із РТНЗ, та підвищення хлору, який до лікування був зниженим у хворих із РТНЗ. При цьому концентрація магнію залишалася після лікування в цих групах підвищеною в 1,7 раз, а рівень хлору зниженим в 1,1 рази (табл. 6.3).

При дослідженні вмісту білкових фракцій в сироватці крові хворих із РТНЗ на 7 добу після проведеного лікування виявили нормалізацію цих

показників в основній групі пацієнтів до рівня в контрольній групі здорових донорів. У групах порівняння  $\alpha$ 1-фракція глобулінів залишалася достовірно підвищеною (в 1,3 рази), а  $\gamma$ -фракція глобулінів - зниженою в 1,6 рази у порівнянні з контрольними величинами (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

**Вміст білкових фракцій сироватки крові у хворих із РТНЗ досліджуваних груп на 7 добу після проведення лікування**

| Показники<br>Досліджувані<br>Групи          | Білкові фракції, % |               |             |           |            |
|---|--------------------|---------------|-------------|-----------|------------|
|   | Альбумін           | Глобуліни     |             |           |            |
|   |                    | $\alpha$ 1-   | $\alpha$ 2- | $\beta$ - | $\gamma$ - |
| Контрольна група<br>(умовно-здорові донори) | 59,2±4,1           | 4,2±1,2       | 8,9±1,5     | 9,5±2,0   | 18,2±2,9   |
| Хворі із РТНЗ до лікування                  | 44,9±3,5           | 7,6±0,6       | 13,0±2,2*   | 14,3±0,9* | 20,0±1,4   |
| Хворі із РТНЗ на 7 добу після лікування     |                    |               |             |           |            |
| Основна група                               | 56,6±4,3           | 3,7±0,6       | 8,8±0,6     | 12,8±2,1  | 18,1±1,6   |
| I група порівняння                          | 53,3±3,6           | 5,1±0,8*      | 11,3±2,3*   | 14,7±3,8  | 15,6±1,8   |
| II група порівняння                         | 52,8±3,5           | 6,3±1,02<br>* | 12,4±3,4*   | 15,7±2,9  | 11,1±1,9*  |

Примітка: \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Збільшення  $\alpha$ 1-фракції глобулінів відбувалося за рахунок збільшення концентрації стресових білків і кислих глікопротеїнів, а зниження  $\gamma$ -глобулінової фракції - за рахунок споживання глобулінів при утворенні циркулюючих імунних комплексів.

При дослідженні ліпідного обміну у хворих із РТНЗ після лікування були отримані дані, представлені в табл. 6.5.

**Показники ліпідного обміну у хворих із РТНЗ досліджуваних підгруп на 7 добу після проведення лікування**

| Групи                                   | Показники              |                          |                 |                 |                        |
|---|------------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|------------------------|
|   | Холестерин,<br>ммоль/л | Тригліцериди,<br>ммоль/л | ЛПВЩ,<br>моль/л | ЛПНЩ,<br>моль/л | Коеф.<br>атерогенності |
| Контрольна група(умовно-здорові донори) | 5,1±0,8                | 2,15±0,8                 | 0,79±0,02       | 2,6±0,05        | 2,5±0,2                |
| Хворі із РТНЗ до лікування              | 3,8±0,3                | 0,8±0,03                 | 2,1±0,32        | 3,6±0,13        | 0,34±0,2               |
| <b>Хворі із РТНЗ після лікування</b>    |                        |                          |                 |                 |                        |
| Основна Група                           | 4,8±0,6                | 1,9±0,3                  | 1,2±0,8         | 2,7±0,1         | 2,1±0,1                |
| I група порівняння                      | 4,1±0,3                | 1,1±0,03*                | 1,9±0,9*        | 2,9±0,2         | 1,1±0,2*               |
| II група порівняння                     | 3,7±0,2*               | 1,4±0,15*                | 1,8±0,8*        | 3,0±0,12        | 1,3±0,3*               |

*Примітка:* \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

У групах порівняння було виявлено деяке зниження ліпопротеїдів високої щільності та ліпопротеїдів низької щільності (в 1,2 рази), щодо концентрації цих показників у хворих із РТНЗ до лікування. Також спостерігали підвищення коефіцієнту атерогенності в цих групах - в середньому в 3,5 рази у порівнянні з групою хворих із РТНЗ до лікування.

Що стосується основної групи, тут відзначали значне зниження концентрації ліпопротеїдів високої щільності (в 1,8 рази) і ліпопротеїдів низької щільності (в 1,3 рази), а також значне підвищення коефіцієнта атерогенності до рівня референтних значень, у порівнянні з групою хворих із РТНЗ до лікування.

Таким чином, показники активності еластази, колагенолітичної активності та вмісту глікозаміногліканів сироватки крові хворих із РТНЗ в прогресуючій стадії слід вважати прогностично значущими в динаміці

патогенетичного лікування, що проводиться. Ці показники дозволяють проводити диференційну діагностику, вибір комплексного лікування, що забезпечує підвищення ефективності лікування пацієнтів із РТНЗ.

Найбільш високі рівні активності протеїназ відзначалися у хворих із РТНЗ і були пов'язані з накопиченням значних концентрацій глікозоаміногліканів в сироватці крові. Результати дослідження свідчать, що перебіг у хворих із РТНЗ супроводжувався порушеннями метаболічного обміну сполучної тканини, які пов'язані з активацією протеїназ і накопиченням в сироватці крові глікозоаміногліканів.

Високий кореляційний зв'язок між динамікою активності еластази, колагенолітичною активністю (за оксипроліном) та вмістом глікозоаміногліканів сироватки крові хворих із РТНЗ дозволяє використовувати ці показники, як прогностично значущі в динаміці патогенетичного лікування, що проводиться.

Результати проведених досліджень свідчать про патогенетичну спрямованість комплексного застосування терапії на основі розробленої схеми комплексного патогенетичного лікування хворих із РТНЗ, які отримували комплексну терапію включно з препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» та місцеву ВАК-терапію на тлі базисної традиційної терапії, що супроводжується швидким і вираженим регресом основних клінічних критеріїв захворювання, і лежить в основі високого терапевтичного ефекту нової схеми сучасного розробленого комплексного способу лікування.

Таким чином, проведене лікування пацієнтів із РТНЗ різного віку за традиційним і розробленим методами різною мірою сприяло нормалізації стану хворих з урахуванням відновлення клініко-лабораторних показників. Застосування запропонованого методу комплексного лікування хворих із РТНЗ з використанням препарату «Гемокорд-Кріоцелл» та місцевої ВАК-терапії (основна група пацієнтів), привело до більш вираженої нормалізації гомеостатичних показників та мало тенденцію наближення до рівня контрольної групи умовно-здорових донорів.

У динаміці було виявлено збільшення рівня еластази, колагенолітичної активності та вмісту глікозоаміногліканів в ранній стадії запалення на початку терапії, що вказувало на структурно-метаболічні порушення в сполучній тканині. Запропонована схема лікування призводила до нормалізації даних показників, що свідчило про загасання патологічного процесу.

В роботі у пацієнтів основної групи визначено зниження концентрації СРБ, – одного з основних показників запалення, що є позитивним прогностичним маркером. Виявлена нормалізація у вмісті білкових та ліпідних фракцій до рівня контрольної групи умовно-здорових донорів.

Тобто, запропонований спосіб лікування хворих із РТНЗ, який передбачає використання препарату «Гемокорд-Кріоцелл» та місцеву ВАК-терапію, супроводжується швидким і вираженим зниженням основних клінічних критеріїв цього виду захворювання та має безсумнівний терапевтичний ефект.

### **6.3 Дослідження стану імунологічних показників у хворих із РТНЗ після проведення лікування**

Після проведеного лікування в досліджуваних групах хворих виявлено зміни за показниками клітинної ланки вродженого імунітету. У групах порівняння значення кількості нейтрофілів, що беруть участь в фагоцитозі (фагоцитарний індекс), на 5 та 7 добу проведеного лікування достовірно не відрізнялися від рівня даного показника у хворих із РТНЗ до лікування (табл.6.6, рис. 6.4).

Таблиця 6.6

**Показники неспецифічної резистентності у хворих  
із РТНЗ досліджуваних груп після лікування**

| Досліджувані групи                       | Показники неспецифічної резистентності |          |                   |         |                                |           |            |           |
|--|--|----------|-------------------|---------|--------------------------------|-----------|------------|-----------|
|  | Фагоцитарний індекс, %                 |          | Фагоцитарне число |         | Індекс завершеності фагоцитозу |           | Комплемент |           |
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | 73,1±9,0                               |          | 3,3±0,05          |         | 1,2±0,1                        |           | 1,05±0,1   |           |
| Хворі із РТНЗ до лікування               | 81,2±7,2                               |          | 3,8±0,2*          |         | 0,95±0,07                      |           | 0,95±0,06  |           |
| Хворі із РТНЗ після лікування            |  |          |                   |         |                                |           |            |           |
|  | 5 доба                                 | 7 доба   | 5 доба            | 7 доба  | 5 доба                         | 7 доба    | 5 доба     | 7 доба    |
| Основна група                            | 77,9±4,1                               | 75,5±6,0 | 3,6±0,4           | 3,4±0,6 | 1,09±0,01                      | 1,15±0,03 | 1,0±0,01   | 1,1±0,02  |
| I група порівняння                       | 80,3±5,3                               | 78,9±5,7 | 3,7±0,2           | 3,5±0,8 | 0,97±0,02                      | 1,00±0,04 | 0,96±0,02  | 0,99±0,07 |
| II група порівняння                      | 80,9±3,1                               | 79,3±3,4 | 3,75±0,3          | 3,5±0,2 | 0,96±0,01                      | 1,05±0,06 | 0,95±0,01  | 1,07±0,08 |

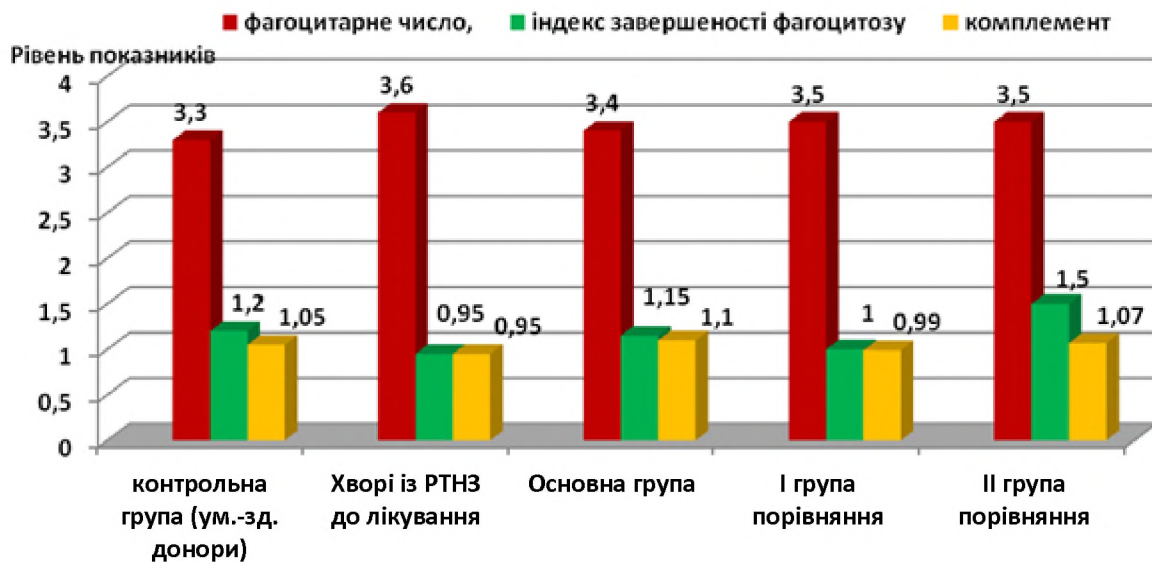


Рис. 6.4 Показники неспецифічної резистентності у хворих із РТНЗ досліджуваних груп після лікування

Після проведеного лікування в основній групі пацієнтів на 7 добу фагоцитарний індекс був на 5% нижчим, ніж в групах порівняння і становив  $(75,5 \pm 6,0)$  %. Фагоцитарне число, що відображає середню кількість захоплених частинок антигену фагоцитом в основній групі в результаті лікування знизилось до нормальних значень -  $3,4 \pm 0,6$ , що нижче ніж в групі пацієнтів із РТНЗ до лікування (табл. 6.6). Перетравлювальна активність нейтрофілів (індекс завершеності фагоцитозу) в основній групі пацієнтів підвищувалась на 13% у порівнянні з групою пацієнтів із РТНЗ до лікування і становила  $1,15 \pm 0,03$ .

В основній досліджуваній групі на 7 добу після проведеного лікування також виявили активацію системи комплементу. У даній групі активність комплементу була на 6% вище в порівнянні з двома групами порівняння і на 13% вище, ніж в групі пацієнтів із РТНЗ до лікування. У хворих із РТНЗ після проведення лікування виявлено тенденцію до нормалізації середніх показників гуморальної ланки імунітету (табл. 6.7)

**Показники гуморальної ланки імунітету у хворих із РТНЗ  
досліджуваних груп після проведення лікування**

| Досліджувані групи                       | Показники гуморальної ланки імунітету |           |              |            |
|--|---------------------------------------|-----------|--------------|------------|
|  | ПСММ, у. од.                          | ЛЦТ, %    | ЦІК, у. од   | ЦІКк       |
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | 0,244± 0,02                           | 28,6±2,30 | 98,3±21,1    | 1,3±0,08   |
| Хворі із РТНЗ до лікування               | 0,379±0,032                           | 49,4±3,8* | 155,7±20,07* | 0,96±0,05* |
| Хворі із РТНЗ після лікування            |                                       |           |              |            |
|  | 5 доба                                | 7 доба    | 5 доба       | 7 доба     |
| Основна група                            | 0,264±0,01*                           | 30,2±1,8  | 102,21±15,1  | 1,2±0,02   |
| I група порівняння                       | 0,278±0,03*                           | 34,8±1,2* | 113,2±11,9   | 1,1±0,05   |
| II група порівняння                      | 0,284±0,07*                           | 33,6±3,8  | 129,5±16,8   | 1,1±0,04   |

Примітка: \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Концентрація пептидів середньої молекулярної маси у пацієнтів основної групи на 5 добу після лікування знаходилася на рівні  $(0,303 \pm 0,11)$  у.ед., а на 7 добу знизилась до  $(0,264 \pm 0,02)$  у.ед., що було в 1,4 рази нижче в порівнянні з групою пацієнтів із РТНЗ до лікування.

За даними табл. 6.7 видно, що з огляду на високу біологічну активність ПСММ, у пацієнтів досліджуваних груп можливі прояви їх нейротоксичної дії, пригнічення процесів біосинтезу білка, пригнічення активності ряду ферментів (роз'єднання процесів окислення і фосфорилування), виникнення станів вторинної імунодепресії, токсична дія на еритропоез. У пацієнтів при загостренні захворювання (I група порівняння) середній рівень аутоімунних антитіл в тесті лімфоцитотоксичності перевищував референтні значення показника в середньому в 1,2 рази. У пацієнтів основної групи після проведеного лікування відзначали зниження на 15% рівня лімфоцитотоксичності щодо I групи порівняння.

Також у пацієнтів I групи порівняння на 7 добу після лікування спостерігається підвищення (на 13%) рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) до  $(113,2 \pm 11,9)$  од. Е. відносно контрольного значення цього показника -  $(98,3 \pm 21,1)$  од. Е ( $P \geq 0,95$ ), але значне зниження відносно рівня ЦІК до лікування.

В основній групі на 5 добу після лікування спостерігали зниження концентрації ЦІК на 22 % у порівнянні з групою пацієнтів із РТНЗ до лікування, а на 7 добу після лікування виявлено зниження рівня концентрації ЦІК до референтних значень -  $(102,21 \pm 15,1)$  од. Е. Рівень константи ЦІК, що характеризує молекулярну масу ЦІК в основній групі після лікування зріс, але залишався на 8% нижчим, ніж в контролі.

Що стосується оцінки концентрації антитіл до нативної ДНК, то були виявлені достовірні зміни концентрації специфічних антитіл до нативної ДНК методом ІФА у хворих двох досліджуваних груп в порівнянні з референтними значеннями. У хворих I і II груп порівняння на сьому добу після лікування виявили більш високу концентрацію антитіл до двохланцюгової ДНК (до  $(1,6 \pm 0,06)$  од. Е) у порівнянні з хворими основної групи, у яких антитіла становили в середньому  $(1,2 \pm 0,04)$  од. Е ( $P \geq 0,95$ ). Отже, збільшення концентрації антитіл до нативної ДНК достовірно взаємопов'язане з перебігом захворювання і свідчить про наявність аутоімунного компонента у хворих I і II груп порівняння із РТНЗ, навіть після проведеного комплексного лікування (табл. 6.8).

Таблиця 6.8

**Динаміка концентрації аутоантител у хворих із РТНЗ досліджуваних груп**

| Показники / Досліджувані групи           | Концентрація специфічних антинуклеарних антител методом імунофлюоресценції | Концентрація специфічних антител до нативної ДНК методом ІФА, од.Е. |
|--|--|---|
| Контрольна група (умовно-здорові донори) | «-»  | 0,7±0,03  |
| Хворі із РТНЗ до лікування               | «++»   | -   |
| Хворі із РТНЗ на 7 добу після лікування  |  |   |
| Основна група                            | «+»  | 1,2±0,04*   |
| І група порівняння                       | «+++»  | 1,6±0,06*   |
| ІІ група порівняння                      | «++»   | 1,4±0,07*   |

*Примітка:* \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

У пацієнтів із РТНЗ після застосовуваних схем терапії досліджували експресію поверхневих маркерів диференціювання з урахуванням стану хворих (табл. 6.9).

Таблиця 6.9

**Рівень субпопуляції лімфоцитів у хворих із РТНЗ досліджуваних груп на 7 добу після лікування**

| Субпопуляції лімфоцитів                       | Контрольна група (умовно-здорові донори) | Основна група | І група порівняння | ІІ група порівняння |
|---|--|---------------|--------------------|---------------------|
| CD 3 <sup>+</sup> , абс. x 10 <sup>6</sup> /л | 1100,0±450,0                             | 1050,0±72,0   | 840,0±60,0*        | 860,0±48,0*         |
| CD 3 <sup>+</sup> , %                         | 62,0±6,5                                 | 60,0±15,2     | 46,8±4,1*          | 53,25±5,7           |
| CD 4 <sup>+</sup> , абс. x 10 <sup>6</sup> /л | 600,0±195,0                              | 610,0±180,0   | 670,00±40,0        | 650,00±58,0         |
| CD 4 <sup>+</sup> , %                         | 38,3±6,5                                 | 37,0±7,6      | 41,00±3,4          | 40,50±4,2           |
| CD 8 <sup>+</sup> , абс. x 10 <sup>6</sup> /л | 300,0±98,0                               | 270,0±30,0    | 225,0±20,0         | 210,0±45,0*         |
| CD 8 <sup>+</sup> , %                         | 23,4±4,4                                 | 21,93±2,23    | 20,8±1,13          | 19,8±2,6            |
| CD 4 <sup>+</sup> / CD 8 <sup>+</sup>         | 2,1±0,5                                  | 2,2±0,38      | 2,4±0,3            | 2,7±0,23            |

*Примітка:* \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Судячи з даних табл. 6.8 і табл. 6.9, у всіх хворих основної групи після лікування спостерігали незначне пригнічення показників Т-клітинного імунітету. В ході дослідження встановлено незначне зниження відносної кількості найбільш функціонально значущої лімфоїдної субпопуляції CD3+ загальних Т-лімфоцитів - на 3% щодо референтних значень показника ( $p \leq 0,05$ ). Відносні величини, що характеризують експресію диференційованих маркерів CD на CD4+ Т-хелперній субпопуляції в основній групі і були на рівні референтних значень. Експресія CD8+ Т-кілерної субпопуляції лімфоцитів була зниженою на 6 % відносно референтних значень. У пацієнтів основної групи на 7 добу після лікування спостерігали підвищення субпопуляцій CD3+, CD4+, CD8+ до рівня цих показників в контрольній групі. Імунорегуляторний індекс CD4+/CD8+ в основній групі після лікування був на рівні референтних значень. У пацієнтів I і II груп порівняння, на відміну від хворих основної групи, на 7 добу після лікування виявлено незначне підвищення абсолютної кількості CD3+ і CD8+ субпопуляцій Т-лімфоцитів (табл. 6.9).

#### **6.4 Динаміка розвитку метаболічних та імунних порушень на основі контролю стану деяких ланок імунної відповіді у хворих із РТНЗ**

Виходячи з мети наших досліджень, яка полягала в дослідженні параметрів імунореактивності у хворих із РТНЗ до- і після лікування, нам вдалося виявити індивідуальні значущі імунно-фізіологічні параметри, які в подальшому можуть бути використані для оцінки стану, прогнозу перебігу захворювання, вибору патогенетичної терапії і моніторингу її проведення.

Разом з тим діагностична і прогностична значимість окремих показників імунної системи залишається недостатньо вивченою, і це, в першу чергу, стосується ЦК. Їх якісний склад істотно впливає на перебіг захворювання. Патогенні властивості ЦК визначаються сукупністю їх фізико-хімічних властивостей, до яких в першу чергу відносяться розміри, склад, концентрація і здатність фіксувати комплемент.

Молекулярна маса ЦК визначає їх розмір, який є найважливішим показником патогенності, а також швидкість елімінації з організму: великі ЦК швидко елімінуються і порівняно мало патогенні; дрібні ЦК погано елімінуються, можуть відкладатися субендотеліально, не здатні активувати систему комплементу; ЦК середнього розміру мають високу комплементзв'язувальну здатність і є найбільш патогенними.

Дослідження рівня ЦК показало, що у хворих із РТНЗ в основній групі після проведеного лікування цей показник перевищував величини в контрольній групі в 1,05 рази, а в I і II групах порівняння - в 1,2 рази.

Константа ЦК у хворих в обох групах порівняння після лікування була зниженою і свідчила про низькі розміри цих комплексів.

Ефективність специфічної ендогенної детоксикаційної терапії відображає величина ПСММ. Стійке підвищення рівня цього показника може свідчити про несприятливий прогноз перебігу захворювання.

Дослідження концентрації ПСММ свідчило про те, що цей показник значно перевищував референтні значення в обох досліджуваних групах порівняння. Таким хворим показано проведення заходів, спрямованих на зниження рівня ендогенної інтоксикації.

Виявлена нами висока лімфоцитотоксичність сироватки крові і в основній групі і I, і II групах порівняння після проведеного лікування свідчить про розвиток у пацієнтів із РТНЗ аутоімунних реакцій.

Так, при дослідженні сироватки крові у пацієнтів в основній групі і пацієнтів в I та II групах порівняння методом імуноферментного аналізу виявили наявність антитіл до нативної та денатурованої ДНК.

При цьому в I та II групах порівняння концентрація аутоантитіл достовірно відрізнялася від показників основної групи після лікування, що відбивалося на стані таких хворих.

Аналіз результатів обстеження пацієнтів основної групи після проведеного лікування показав, що найбільш значущими з усього масиву

досліджуваних параметрів, що характеризують функціональну активність імунокомпетентних клітин, є диференціальні маркери CD3+, CD4+ і CD8+.

Як відомо, зрілі Т-лімфоцити здійснюють імунологічний нагляд за антигенним гомеостазом в організмі, виконуючи дві важливі функції: ефекторну і регуляторну.

Ефекторна функція полягає в специфічній цитотоксичності по відношенню до чужорідних клітин. Регуляторна функція (Т-хелпери - Т-супресори) складається в контролі за інтенсивністю розвитку специфічної реакції імунної системи на чужорідні антигени.

Таким чином, проведені дослідження субпопуляційного складу Т-лімфоцитів у хворих основної групи після проведеного лікування показали підвищення рівня CD3+, CD4+ і CD8+ - Т-лімфоцитів до контрольних значень.

Незначне підвищення експресії маркерів диференціювання CD3+ і CD4+ спостерігали після лікування і в I та II групах порівняння, що свідчило про збереження у таких пацієнтів імунодефіцитних станів Т-клітинної ланки імунітету.

Регуляторні тимічні пептиди здійснюють дистанційне керування клітинами периферичної імунної системи, викликаючи стимуляцію їх диференціювання і дозрівання.

Активовані лімфоїдні клітини периферичної імунної системи продукують цитокіни, які ініціюють проліферацію і дозрівання Т-і В-лімфоцитів.

При цьому знижені показники підвищуються, а гіперактивні процеси в окремих субпопуляціях Т-лімфоцитів повертаються до значень, близьких до нормального рівня.

**Прогностичне значення про- й протизапальних медіаторів імунної системи в механізмі розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ. Завдання прогнозування перебігу**

захворювання та результату лікування хворих із РТНЗ після проведеної комплексної терапії залишається остаточно не вирішеним.

У зв'язку з цим актуальним завданням є розробка і впровадження в клінічну практику специфічних молекулярних і біохімічних маркерів, як критеріальних показників, що характеризують стан біоенергетичних процесів імунологічного контролю, ступеня агресивності процесу і, крім того, дозволяють індивідуалізувати прогноз клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

Одним з важливих чинників, залучених в процеси клітинної проліферації, диференціювання і контролю патологічних процесів при РТНЗ, є медіатори імунної системи. З огляду на сказане вище, нами вивчено вміст в сироватці ікрівих ворих із РТНЗ про-і протизапальних цитокінів в 1-3 добу після госпіталізації і обґрунтовано їх прогностичне значення для діагностики та оптимізації комплексного патогенетичного лікування.

Вивчення вмісту в сироватці крові медіаторів імунної системи до- та після проведеного лікування виявило динамічні зміни всіх досліджуваних цитокінів і неоднозначну їх спрямованість в різних досліджуваних групах.

Так, в I і II групах порівняння виявили статистично достовірне збільшення концентрації всіх досліджуваних цитокінів, крім ІЛ-4 і ІЛ-10, які були знижені в другій групі порівняння на 30% щодо референтних значень групи умовно-здорових донорів. В середньому відзначали дворазове-семиразове зростання концентрації про-і протизапальних цитокінів.

Максимальний рівень ІЛ-10, який склав  $67,6 \pm 14,3$  пкг/мл, виявили в першій групі порівняння (табл. 6.10).

Таблиця 6.10

**Динаміка про- й протизапальних медіаторів імунної системи в сироватці крові хворих із РТНЗ досліджуваних груп після лікування**

| Показники,<br>пкг/мл | Досліджувані групи, M+m                        |                  |                       |                        |
|----------------------|--|------------------|-----------------------|------------------------|
|                      | Хворі із РТНЗ на 7 добу після лікування        |                  |                       |                        |
|                      | Контрольна група<br>(умовно-здорові<br>донори) | Основна<br>група | I група<br>порівняння | II група<br>порівняння |
| ФНП- $\alpha$        | 3,6 $\pm$ 1,2                                  | 3,9 $\pm$ 1,4    | 7,8 $\pm$ 1,6*        | 8,4 $\pm$ 2,7*         |
| ІЛ-6                 | 3,8 $\pm$ 1,1                                  | 4,1 $\pm$ 1,6    | 8,6 $\pm$ 1,2*        | 10,5 $\pm$ 1,6*        |
| ІЛ-1 $\beta$         | 4,3 $\pm$ 1,1                                  | 4,8 $\pm$ 1,5    | 8,2 $\pm$ 1,6*        | 8,5 $\pm$ 1,9*         |
| ІЛ-8                 | 7,5 $\pm$ 1,6                                  | 7,8 $\pm$ 1,3    | 9,7 $\pm$ 1,3         | 11,4 $\pm$ 2,3*        |
| ІЛ-4                 | 9,2 $\pm$ 1,3                                  | 10,5 $\pm$ 1,7   | 14,8 $\pm$ 2,6        | 6,2 $\pm$ 0,8*         |
| ІЛ-10                | 43,6 $\pm$ 5,2                                 | 55,4 $\pm$ 10,4  | 67,6 $\pm$ 14,3       | 36,4 $\pm$ 4,3*        |

*Примітка:* \* - розбіжності істотні із достовірністю  $P > 0,95$  ( $p < 0,05$ )

Так, в основній групі концентрація прозапальних цитокінів була виявленою на рівні референтних значень групи умовно здорових донорів. Концентрація протизапальних цитокінів ІЛ-4 і ІЛ-10 в основній групі перевищувала рівень референтних показників групи умовно-здорових донорів в 1,1 рази і в 1,3 рази відповідно.

Дослідження також вказують, що у хворих із РТНЗ у всіх досліджуваних групах підвищується ФНП- $\alpha$ , що може вказувати на активацію макрофагів, моноцитів, посилення цитотоксичної дії, індукцію секреції цитокінів. Дія ФНП- $\alpha$  може супроводжуватися посиленням проліферації і диференціюванням нейтрофілів, фібробластів, Т- і В-лімфоцитів, а також посиленням транскрипції прозапальних цитокінів - ІЛ-6, ІЛ-8 та ІЛ-1 $\beta$ .

Достовірне підвищення прозапальних цитокінів в групах порівняння вказує на активацію клітин-продуцентів прозапальних цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-8 та

ІЛ-1 $\beta$ ): моноцитів, макрофагів, Т-лімфоцитів вторинного типу (і К-2 клітин), нейтрофілів, фібробластів, кератиноцитів, хондроцитів і епітеліальних клітин.

Такі зміни здатні посилювати стимуляцію В-клітин, Т-клітин, НК-клітин, підвищувати експресію міжклітинних адгезивних молекул ICAM ендотеліальними клітинами і адгезивні властивості макрофагів, нейтрофілів, активувати індукцію гепатоцитами білків гострої фази (гаптоглобін, церулоплазмін, С-реактивний білок й ін.), прискорювати диференціювання проліферуючих В-клітин в плазматичні і стимулювати ними антітілопродукцію, а також стимулювати проліферацію тимоцитів і перетворення Т-лімфоцитів в цитотоксичні лімфоцити.

Підвищення ІЛ-8 в сироватці крові хворих із РТНЗ вказує на посилення активності широкого спектру імунокомпетентних клітин (моноцитів, макрофагів, нейтрофілів, фібробластів, ендотеліальних клітин і ін.), яка супроводжується стимуляцією хемотаксису нейтрофілів, субпопуляцій Т-лімфоцитів і базофілів. ІЛ-8 активує нейтрофіли до викиду ферментів лізосомами ("дихальний вибух" і дегрануляція), підвищує спорідненість нейтрофілів до ендотеліальних клітин, індукуючи вихід лейкотрієну В4 (ЛТ-В4) з нейтрофілів і підвищує спорідненість моноцитів до клітин ендотелію. Це створює метаболічні умови для руйнування клітин шкіри.

Підвищення вмісту ІЛ-4 і ІЛ-10 у хворих із РТНЗ І групи порівняння вказує на активацію НК-клітин і Th2-клітин, яка супроводжується посиленням функції Т-хелперів, розмноженням активних В-клітин, огрядних клітин і гемопоетичних клітин, пригніченням цитокінової продукції, в тому числі Т-лімфоцитів первинного типу (Th1-клітинами), пригніченням активності макрофагів, продукції моноцитами і макрофагами прозапальних цитокінів, на тлі підвищення проліферації В-лімфоцитів і секреції імуноглобулінів. Це свідчило про те, що у хворих із РТНЗ порушені центральні механізми розвитку і реалізації імунних реакцій, пов'язаних з пригніченням клітинної і гуморальної ланок імунної системи.

Показники гуморального імунітету змінювалися наступним чином: рівень ЦІК малого розміру у хворих в 1 групі порівняння, які отримали базисну терапію, спочатку був вищим, ніж у групі контролю на 21,1% ( $p < 0,05$ ), залишаючись без змін при виписці.

В основній групі пацієнтів, які отримували комплексну терапію з препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» та місцеву ВАК-терапію, показник ЦІК також був вищим за контрольна 32,9% ( $p < 0,01$ ), знизившись до кінця лікування на 14% ( $p < 0,05$ ), не досягнувши, однак, значень умовно-здорових донорів контрольної групи. ІgА в 1-й і 2-й групах порівняння до початку лікування був вищим за контрольні дані на 43,2% ( $p < 0,05$ ) і 35,3% ( $p < 0,05$ ), відповідно.

На тлі досліджуваних видів терапії рівень ІgА мав тенденцію до зниження в 1 групі порівняння і знизився в основній групі до розробленої схеми лікування на 18,3% ( $p < 0,05$ ), досягнувши рівня значень умовно-здорових донорів контрольної групи.

Вміст ІgG в 1 групі порівняння значних коливань не мав, не відрізняючись від контролю. В основній групі із сумісним застосуванням комплексної терапії з препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» та місцевої ВАК-терапії рівень ІgG мав тенденцію до зниження на 5,9% ( $p > 0,05$ ), досягнувши значення  $972,5 \pm 35,18$  мг%, що було нижчим, ніж у групі контролю на 21,3% ( $p < 0,05$ ). Рівень ІgM спочатку в 1-й і 2-й групах порівняння був нижчим за показник умовно-здорових донорів на 27,2% ( $p < 0,05$ ) і 31,1% ( $p < 0,05$ ), відповідно.

До кінця лікування показник мав тенденцію до підвищення у всіх досліджуваних групах. Значення НСТ-тесту, СІК НСТ-тесту, активності фагоцитозу як до-, так і після проведеного лікування у всіх досліджуваних групах значущих відхилень від контрольних даних не мали.

Динаміка значень цитокінового профілю характеризується різноспрямованістю змін. Так, ІЛ-1 спочатку був вищим за значення контролю у пацієнтів всіх досліджуваних груп ( $p < 0,05$ ) і до кінця проведеної терапії мав достовірне зниження.

Рівень протизапального ІЛ-4 в основній групі початково був нижчим за контроль ( $p < 0,05$ ) і мав достовірне зростання ( $p < 0,05$ ), в 1-й групі порівняння показник не відрізнявся від умовно-здорових донорів контрольної групи і не змінився на тлі лікування. ІЛ-8, який є прозапальним, до початку лікування у всіх досліджуваних групах достовірно від контрольних значень не відрізнявся, знизившись, однак, при виписці в основній групі ( $p < 0,05$ ).

Значення ФНП- $\alpha$ , спочатку підвищені в усіх досліджуваних групах ( $p < 0,05$ ), мали достовірне зниження ( $p < 0,05$ ). Рівень ІЛ-6 не зазнав значних змін на тлі досліджуваних видів терапії у пацієнтів досліджуваних груп.

Отримані в дослідженні суперечливі дані лише підтверджують мало вивчені і складні механізми функціонування деяких прозапальних цитокінів при аутоімунних процесах. Базисна терапія хворих із РТНЗ справляє позитивний вплив на основні показники гомеостазу у пацієнтів, сприяє зниженню прозапальних інтерлейкіну- $1\beta$  і фактора некрозу пухлини  $\alpha$ , а також редукції клінічних проявів.

Таким чином, аналіз отриманих результатів дає підставу вважати, що в основній групі хворих із РТНЗ після проведеного лікування за сучасною розробленою схемою, значно активується продукція анти- і прозапальних медіаторів імунної системи, тоді як у I та II групах порівняння хворих із РТНЗ відзначається пригнічення секреції антизапальних цитокінів на тлі підвищення прозапальних медіаторів, що може мати прогностичне значення для подальшої оптимізації патогенетичної терапії у хворих цих груп.

Запорукою успішного лікування цих хворих може бути рання діагностика всіх зсувів, змін і патологічних процесів у хворих із РТНЗ. На сьогоднішній день методи її виявлення розроблені все ще недостатньо ефективно, що не дозволяє визначати наявність преморбідного метаболічного стану на стадії формування хвороби і розвитку патологічного процесу і свідчить про необхідність подальшого вивчення етіології і патогенезу дисфункції еластази і колагену у хворих цього контингенту.

Таким чином, проведене дослідження демонструє, що комплексне лікування призводить до нормальних значень циркулюючих імунних комплексів, імуноглобуліну А, інтерлейкінів 1 і 4, а також фактору некроза пухлини  $\alpha$ .

Виявлена тенденція до нормалізації основних імунологічних показників (індекс завершення фагоцитозу, концентрація пептидів середньої молекулярної маси, циркулюючих імунних комплексів, лімфоцитотоксичність, експресія основних кластерів диференцировки Т-клітин), що є позитивним прогностичним проявом перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ. Різнострамовані зміни концентрації інтерлейкінів безсумнівно свідчать про їх участь у механізмах, що супроводжують перебіг РТНЗ. Насамперед, це прозапальні інтерлейкіни ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8. Збільшення рівня протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 вказує на активацію механізмів, спрямованих на згасання патологічного процесу, очищення та загоєння ран.

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

За даними ВООЗ, у всіх індустріально розвинених країнах світу 400 тис. з 10 млн. людей страждають на РТНЗ. За даними МОЗ України тільки за останні 5 років захворюваність на РТНЗ в середньому збільшилася з 405,2 до 460,3 хворих на 100000 населення і до 2022 року склала 455,8 випадків на 100000. В останні роки намітився певний прогрес у розвитку питань клініко-патофізіологічної оцінки та наданню хірургічної допомоги хворим із РТНЗ.

Сучасний стан цих питань характеризується їх невідомістю та недостатнім відображенням в літературі даних про специфіку ранньої діагностики, лікування хворих на РТНЗ, недоліком и недосконалістю схем раціональної лікувально-діагностичної тактики. У зв'язку з цим патогенетично обумовленим є пошук нових методів лікування РТНЗ, що нормалізують гомеостаз на клітинному рівні - використання в комплексному хірургічному лікуванні медичного імунобіологічного препарату «Гемокорд-Кріоцелл», а також застосування для лікування РТНЗ сучасних технологій у вигляді ВАК-терапії.

Одним з таких методів є нова схема терапії з використанням сучасних препаратів, патогенетичний ефект якої визначається високим відновним потенціалом, що призводить до утворення та синтезу біологічно активних речовин, посилення активності імунокомпетентних клітин, стимуляції репаративних процесів та ін.

Оптимізація та підвищення ефективності лікування хворих цієї категорії може бути досягнута лише при комплексному, об'єктивно обґрунтованому підході до вибору лікувальної тактики, орієнтованої на клініко-патогенетичні особливості з урахуванням метаболічних та імунних порушень і застосуванням нової схеми комплексного лікування хворих із РТНЗ.

Під спостереженням перебувало 107 хворих на РТНЗ, які знаходилися на стаціонарному лікуванні у хірургічному відділенні КНП ХОР «Обласна

клінічна лікарня» з 2020 по 2024 рр. Було обстежено 21 (19,58 %) чоловіків та 86 (80,41 %) жінок, віком 21-70 років. Найбільша кількість хворих із РТНЗ відзначалася у віковій групі 31-50 лет. Слід зазначити, що у контексті різноманіття існуючих визначень і класифікацій ми розглядаємо розвиток й формування синдрому імунної дисфункції, як фазний патологічний процес, що поступово розвивається при наявності РТНЗ, в основі якого лежать порушення гомеостазу, загальних і місцевих адаптаційних процесів, підкріплення яких досягається проведенням адекватного комплексу лікувальних заходів.

Анамнестичні дані включали відомості про давність і причини захворювання, проведене раніше лікування, дані про попередні і супутні захворювання. Особливу увагу при зборі анамнезу приділяли тривалості перебігу і поширеності процесу, наявності супутньої патології. Також при огляді пацієнтів проводили фотозйомку осередків ураження. Були досліджені загальний і біохімічний аналіз крові, а також імунологічні показники.

Мета дослідження: підвищити ефективність комплексного хірургічного лікування ран, що тривало не загоюються, шляхом лікування медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцел» сумісно з VАС-терапією.

Завдання дослідження:

1. Вивчити клініко-епідеміологічні аспекти і клінічні прояви РТНЗ на сучасному етапі у клініці.

2. Провести комплексну діагностику з обґрунтуванням застосування сучасних методів дослідження для подальшого вивчення показників імунного та біохімічного гомеостазу та його вплив на регрес формування метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

3. Розробити спосіб клініко-лабораторної оцінки ефективності комплексного хірургічного лікування для визначення ступеня регресу розвитку синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

4. Розробити нову сучасну схему комплексного хірургічного лікування ран, що тривало не загоюються, із застосуванням кріоконсервованої плазми кордової крові людини «Гемокорд-Кріоцел», опрацювати модифікований у

клініці метод ВАК-терапії з впровадженням у хворих із важкими великими поширеними гнійними РТНЗ, визначити вразливість перебігу ранового процесу до -і після лікування за даними бактеріологічного та планіметричного досліджень шляхом обмірювання розміру та обчислювання площі ранової поверхні.

5. На підставі оцінки стану метаболічних порушень і динаміки показників імунного статусу хворих у період прогресуючої стадії захворювання розробити критерії прогнозу клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

6. Провести порівняльну оцінку ефективності результатів застосування різних схем терапії з використанням традиційних лікувальних підходів на основі традиційної базової терапії та запропонованої нової сучасної схеми комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ.

Критеріями включення в дослідження стали: наявність РТНЗ у хворих із встановленим діагнозом, тобто, як типова картина захворювання в стадії ерітеми (набряку) і / або ущільнення, так й відсутність ознак системності процесу, вік від 25 до 70 років, отримання інформованої згоди пацієнта.

Критеріями невключення були: наявність злоякісних новоутворень і передракових захворювань шкіри й внутрішніх органів в анамнезі та на момент огляду, супутні захворювання, включно психічні а також протипоказання до призначення препаратів, що входять до терапевтичних схем лікування.

Критерії виключення пацієнта з дослідження (що планувалося використовувати): прояви небажаних явищ, що пов'язані із терапією або невиконанням режиму призначеної схеми терапії, але хворих виключених із дослідження у зв'язку з небажаними явищами, пов'язаними із розробленою терапією, не було.

З метою вивчення ефективності комбінованого використання традиційної базисної терапії і нових схем лікування РТНЗ усіх пацієнтів було

розподілено на 3 зіставні за всіма параметрами групи випадковим чином. Групи довільно формувалися з хворих, що відповідали критеріям включення.

Так, до I групи порівняння було включено 38 (35,05 %) пацієнтів із РТНЗ, які отримали базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію та місцеве використання 0,02% розчину Декасана.

У II групу порівняння увійшли 33 (30,92 %) хворих із РТНЗ, за схемою, що включала базисне лікування: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана із додаванням препарату «Гемокорд-Кріоцелл» на протязі 7 діб.

В основну групу увійшли 36 (34,01 %) хворих із РТНЗ, що отримали комплексне лікування за схемою, методику якої було розроблено у клініці: базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана, із лікуванням медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» на протязі 7 діб, а також додатково сеанси VАС-терапії на протязі 5 діб.

Для проведення порівняльного аналізу та отримання більш достовірних результатів дослідження додатково було введено контрольну групу, що складалася з 25 умовно-здорових обстежених добровольців, мешканців Харківського регіону.

Групи пацієнтів були репрезентативні за статтю, віком, вихідним клінічним-лабораторним показникам.

Базисне лікування передбачало застосування антифіброзних, дезінтоксикаційних, вазоактивних, нестероїдних протизапальних препаратів, гепатопротекторів, вітамінів за стандартними методиками. Місцево накладали топічні протизапальні, розсмоктуючі засоби. Також в лікуванні хворих із РТНЗ використовували фізіотерапевтичні методи.

Вибір хірургічної тактики здійснювали наступним чином. Після хірургічної обробки гнійного осередку (місцева обробка ран проводилася з використанням місцевих антисептиків та мазей на водорозчинній основі) у

пацієнтів основної групи застосовували VAC-терапію в безперервному режимі з вакуумом 125 мм рт. ст. зі зміною пов'язки через 48-72 години. На підготовлену ранову поверхню наносили пористий поліуретановий матеріал, вирізаний точно по контуру рани, щоб розміри та контури ранового покриву відповідали контурам ранового дефекту на всіх згинах кінцівок. Пов'язку готували, переносили та випрямляли на рівній поверхні, яку попередньо сфотографували за допомогою цифрової камери разом із заздалегідь визначеним стандартом площі, для якої в якості маркера використовували сантиметрову лінійку. Для розрахунку площі рани отримане зображення ранового покриву обробляли за допомогою комп'ютерної програми IpSquare. На рану накладали підготовлену вакуумну пов'язку та проводили вакуумну терапію.

За методикою клініки розроблено «Спосіб клініко-лабораторного моніторингу проведення комплексного хірургічного лікування» із визначенням вмісту ГАГ, активності ферментів еластази та КЛА сироватки крові за сумарною кількістю вільного та пептидно-зв'язаного оксипроліну. Найбільш високі значення оксипроліну виявилися у пацієнтів із РТНЗ до лікування –  $(34,3 \pm 3,6)$  мкмоль оксипроліну/л·г, а також після лікування в I та II групах порівняння ( $[31,8 \pm 4,3]$  і  $[28,4 \pm 3,5]$  мкмоль оксипроліну/л·г). При цьому в основній групі зафіксовано значне зниження цього показника майже вдвічі –  $(16,8 \pm 6,4)$  мкмоль оксипроліну/л·г порівняно з показниками хворих із РТНЗ до лікування. Однак ці рівні після проведеного лікування були значно нижчими, ніж показники у пацієнтів I і II груп порівняння. Рівні КЛА плазми крові у пацієнтів із РТНЗ до лікування перевищували дані умовно-здорових пацієнтів, що забезпечує цьому показнику важливе діагностичне і прогностичне значення при визначенні ступеня регресу розвитку синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ. На підставі проведеного дослідження встановлено підвищення в сироватці крові активності еластази, колагенолітичної активності та вмісту глікозоаміногліканів в прогресуючій

стадії на початку терапії, що свідчило про структурно-метаболичні порушення в сполучної тканини (СТ).

Таким чином, результати проведеного дослідження виявили низку особливостей біохімічних показників й свідчать, що РТНЗ в прогресуючій стадії супроводжувалася порушеннями метаболичного обміну сполучної тканини, які пов'язані з активацією протеїназ і накопиченням в сироватці крові глікозаміногліканів. Високий кореляційний зв'язок між динамікою активності еластази, колагенолітичною активністю (за оксипроліном) та вмістом глікозаміногліканів сироватки крові при РТНЗ дозволяє використовувати ці показники для диференційної діагностики й вибору комплексної терапії, як прогностично значущі в динаміці патогенетичного лікування, що забезпечує підвищення ефективності його проведення.

В основній досліджуваній групі після проведеного лікування також виявили незначну активацію системи комплементу. У даній групі активність комплементу була на 6% вище в порівнянні з групами порівняння і на 13% вище, ніж в групі пацієнтів на РТНЗ до лікування.

У досліджуваних хворих на РТНЗ після проведення лікування виявлено тенденцію до нормалізації середніх показників гуморальної ланки імунітету.

Концентрація пептидів середньої молекулярної маси у пацієнтів основної групи після лікування знаходилася на рівні  $0,264 \pm 0,02$  у.ед., що було в 1,1 рази нижче в порівнянні з групою пацієнтів із РТНЗ до лікування.

З огляду на високу біологічну активність ПСММ, у пацієнтів досліджуваних груп можливі прояви їх нейротоксичної дії, пригнічення процесів біосинтезу білка, пригнічення активності ряду ферментів (роз'єднання процесів окислення і фосфорилування), виникнення станів вторинної імунодепресії, токсична дія на еритропоез. У пацієнтів при загостренні захворювання (І група порівняння) середній рівень аутоімунних антитіл в тесті лімфоцитотоксичності перевищував референтні значення показника в середньому в 1,2 рази. У пацієнтів основної групи після

проведеного лікування відзначали зниження на 15% рівня лімфоцитотоксичності щодо I групи порівняння.

Також у пацієнтів I групи порівняння після лікування спостерігається підвищення (на 13%) рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦК) до  $113,2 \pm 11,9$  од. при контрольному значенні показника -  $98,3 \pm 21,1$  у.од. Е ( $P \geq 0,95$ ). В основній групі після лікування виявлено мінімальний рівень концентрації ЦК в порівнянні з досліджуваними групами ( $102,21 \pm 15,1$  у.од.). Рівень константи ЦК, що характеризує молекулярну масу ЦК в основній групі після лікування був на 8% нижчим, ніж в контролі. Що стосується оцінки концентрації антитіл до нативної ДНК, то були виявлені достовірні зміни концентрації специфічних антитіл до нативної ДНК методом ІФА у хворих двох досліджуваних груп в порівнянні з референтними значеннями. У хворих I і II груп порівняння після лікування виявили більш високу концентрацію антитіл до подвійної спіралі ДНК (до  $1,6 \pm 0,06$  од. Е) в порівнянні з хворими основної групи, у яких антитіла становили в середньому  $1,2 \pm 0,04$  од. Е ( $P \geq 0,95$ ).

У всіх хворих основної групи після лікування спостерігали незначне пригнічення показників Т-клітинного імунітету. В ході дослідження встановлено незначне зниження відносної кількості найбільш функціонально значущої лімфоїдної субпопуляції CD3+ загальних Т-лімфоцитів - на 3% щодо референтних значень показника ( $p \leq 0,05$ ). Відносні величини, що характеризують експресію диференційованих маркерів CD на Т-хелперній (CD4+) в основній групі були на рівні референтних значень. Експресія Т-кілерної (CD8+) субпопуляції Т-лімфоцитів була зниженою на 6% відносно референтних значень. Виявлено підвищення експресії диференційованого маркера CD2+ активних Т-лімфоцитів, що беруть участь в стимуляції В-клітин, на 2,5% в порівнянні з контрольною групою здорових донорів.

У пацієнтів I і II груп порівняння, на відміну від хворих основної групи, після лікування виявлено зниження (в середньому в 1,3 рази) абсолютної кількості CD2+, CD3+ і CD8+ субпопуляцій Т-лімфоцитів. Імунорегуляторний

індекс CD4+ / CD8+ в основній групі після лікування був на рівні референтних значень.

Виходячи з мети й завдань наших досліджень, які полягали в дослідженні параметрів імунореактивності у хворих на РТНЗ до- і після лікування, нам вдалося виявити індивідуальні значущі імунно-фізіологічні параметри, які в подальшому можуть бути використані для оцінки загального стану, прогнозу перебігу захворювання, вибору патогенетичної терапії і оцінки її ефективності.

За результатами комплексного обстеження хворих із РТНЗ залежно від загального стану було виявлено підвищення рівня ендогенної інтоксикації (на 20 %), що відбувалося на тлі зниження експресії антигенних маркерів CD3+ (на 29 %) та CD8+ (на 19 %). У декількох хворих (4 пацієнти) виявлено наявність антитіл до нативної ДНК, що підкреслювало наявність автоімунного компоненту. Збільшення концентрації СРБ (у 4 рази) вказувало на перебіг гострої фази запального процесу. Зміна вмісту білкових і ліпідних фракцій розглядалась як додаткові фактори порушення регуляторних і регенеративних функцій на рівні структурної організації клітинних мембран. Значне збільшення рівня еластази (на 35 %), ГАГ (на 27 %), КЛА плазми крові за оксипроліном (на 57 %) вказувало на незадовільний структурно-метаболічний стан СТ та його вплив на регрес формування метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

Ефективність специфічної ендогенної детоксикаційної терапії відображає величина ПСММ. Стійке підвищення рівня цього показника може свідчити про несприятливий прогноз перебігу захворювання. Дослідження концентрації ПСММ свідчило про те, що цей показник значно перевищував референтні значення в обох досліджуваних групах порівняння. Таким хворим було показано проведення заходів, спрямованих на зниження рівня ендогенної інтоксикації і виконувалася дезінтоксикаційна інфузійно-трансфузійна терапія.

Аналіз результатів обстеження пацієнтів основної групи після проведеного лікування показав, що найбільш значущими з усього масиву

досліджуваних параметрів, що характеризують функціональну активність імунокомпетентних клітин, є диференціальні маркери CD3+, CD4+ і CD8+. Як відомо, зрілі Т-лімфоцити здійснюють імунологічний нагляд за антигенним гомеостазом в організмі, виконуючи дві важливі функції: ефекторну і регуляторну. Ефекторна функція полягає в специфічній цитотоксичності по відношенню до чужорідних клітин. Регуляторна функція (Т-хелпери - Т-супресори) складається в контролі за інтенсивністю розвитку специфічної реакції імунної системи на чужорідні антигени.

Таким чином, проведені дослідження субпопуляційного складу Т-лімфоцитів у хворих основної групи після проведеного лікування показали зниження рівня CD3+, CD4+ і CD8+ - Т-лімфоцитів у порівнянні з референтними значеннями.

Максимальне зниження експресії маркерів диференціювання CD3+ і CD4+ спостерігали після лікування і в I та II групах порівняння, що свідчило про збереження у таких пацієнтів імунодефіцитних станів Т-клітинної ланки імунітету. Регуляторні тимічні пептиди здійснюють дистанційне керування клітинами периферичної імунної системи, викликаючи стимуляцію їх диференціювання і дозрівання. Активовані лімфоїдні клітини периферичної імунної системи продукують цитокіни, які ініціюють проліферацію і дозрівання Т-і В-лімфоцитів. При цьому знижені показники підвищуються, а гіперактивні процеси в окремих субпопуляціях Т-лімфоцитів повертаються до значень, близьких до нормального рівня.

Завдання прогнозування перебігу захворювання та результату лікування хворих із РТНЗ після проведеної комплексної терапії залишається остаточно не вирішеною. У зв'язку з цим актуальним завданням є розробка і впровадження в клінічну практику специфічних молекулярних і біохімічних маркерів, як критеріальних показників, що характеризують стан біоенергетичних процесів імунологічного контролю, ступеня агресивності процесу і, крім того, дозволяють індивідуалізувати прогноз ранового процесу

і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

Одним з важливих чинників, залучених в процеси клітинної проліферації, диференціювання і контролю патологічного процесу при РТНЗ, є медіатори імунної системи. З огляду на сказане вище, нами вивчено вміст в сироватці крові хворих на РТНЗ про-і антизапальних цитокінів в 1-3 добу після госпіталізації і обґрунтовано їх прогностичне значення для діагностики та оптимізації патогенетичної терапії.

Вивчення вмісту в сироватці крові медіаторів імунної системи до- та після проведеного лікування виявило динамічні зміни всіх досліджуваних цитокінів і неоднозначну їх спрямованість в різних досліджуваних групах. Так, в I і II групах порівняння виявили статистично достовірне збільшення концентрації всіх досліджуваних цитокінів, крім ІЛ-4 і ІЛ-10, які були знижені в другій групі порівняння на 30% щодо референтних значень групи умовно-здорових донорів. В середньому відзначали дворазове-семиразове зростання концентрації про-і антизапальних цитокінів. Максимальний рівень ІЛ-10, який склав  $67,6 \pm 14,3$  пкг / мл, виявили в першій групі порівняння.

В основній групі концентрація прозапальних цитокінів була виявленою на рівні референтних значень групи умовно здорових донорів. Концентрація протизапальних цитокінів ІЛ-4 і ІЛ-10 в основній групі перевищувала рівень референтних показників групи умовно-здорових донорів в 1,1 рази і в 1,3 рази відповідно.

Достовірне підвищення прозапальних цитокінів в групах порівняння РТНЗ вказує на активацію клітин-продуцентів прозапальних цитокінів (ІЛ-6, ІЛ-8 та ІЛ-1 $\beta$ ): моноцитів, макрофагів, Т-лімфоцитів вторинного типу (і К-2 клітин), нейтрофілів, фібробластів, кератиноцитів, хондроцитів і епітеліальних клітин.

Такі зміни здатні посилювати стимуляцію В-клітин, Т-клітин, НК-клітин, підвищувати експресію міжклітинних адгезивних молекул ICAM ендотеліальними клітинами і адгезивні властивості макрофагів, нейтрофілів,

активувати індукцію гепатоцитами білків гострої фази (гаптоглобін, церулоплазмін, С-реактивний білок й ін.), прискорювати диференціювання проліферуючих В-клітин в плазматичні і стимулювати ними антитілопродукцію, а також стимулювати проліферацію тимоцитів і перетворення Т-лімфоцитів в цитотоксичні лімфоцити.

Підвищення ІЛ-8 в сироватці крові хворих із РТНЗ вказує на посилення активності широкого спектру імунокомпетентних клітин (моноцитів, макрофагів, нейтрофілів, фібробластів, ендотеліальних клітин і ін.), яка супроводжується стимуляцією хемотаксиса нейтрофілів, субпопуляцій Т-лімфоцитів і базофілів. ІЛ-8 активує нейтрофіли до викиду ферментів лізосомами ("дихальний вибух" і дегрануляція), підвищує спорідненість нейтрофілів до ендотеліальних клітин, індукуючи вихід лейкотрієна В4 (ЛТ-В4) з нейтрофілів і підвищує спорідненість моноцитів до клітин ендотелію. Це створює метаболічні умови для руйнування клітин шкірних країв рани.

Підвищення вмісту ІЛ-4 і ІЛ-10 у хворих із РТНЗ І групи порівняння вказує на активацію НК-клітин і Th2-клітин, яка супроводжується посиленням функції Т-хелперів, розмноженням активних В-клітин, огрядних клітин і гемопоетичних клітин, пригніченням цитокінової продукції, в тому числі Т-лімфоцитів первинного типу (Th1-клітинами), пригніченням активності макрофагів, продукції моноцитами і макрофагами прозапальних цитокінів, на тлі підвищення проліферації В-лімфоцитів і секреції імуноглобулінів. Це свідчило про те, що у хворих на РТНЗ порушені центральні механізми розвитку і реалізації імунних реакцій, пов'язаних з пригніченням клітинної і гуморальної ланок імунної системи.

Таким чином, аналіз отриманих результатів дає підставу вважати, що в основній групі хворих на РТНЗ після проведеного лікування за новою сучасною розробленою схемою, значно активується продукція анти- і прозапальних медіаторів імунної системи, тоді як у I та II групах порівняння хворих на РТНЗ відзначається пригнічення секреції антизапальних цитокінів

на тлі підвищення прозапальних медіаторів, що може мати прогностичне значення для подальшої оптимізації патогенетичної терапії у хворих цих груп.

Запорукою успішного лікування цих хворих може бути рання діагностика РТНЗ. На сьогоднішній день методи її виявлення розроблені все ще недостатньо ефективно, що не дозволяє визначати наявність преморбідного метаболічного стану на стадії формування хвороби і розвитку патологічного процесу і свідчить про необхідність подальшого вивчення етіології і патогенезу дисфункції еластази і колагену.

У пацієнтів основної групи після проведеного лікування концентрація СРБ позитивно знижувалася до рівня в середньому 12 г / л, що було на 33% і на 25% нижче, ніж в I та II групах порівняння відповідно. У групах порівняння концентрація СРБ достовірно не відрізнялася від групи РТНЗ до лікування, і перевищувала референтні показники контрольної групи в середньому в 3 рази, що свідчить про перебіг гострої фази запального процесу.

При дослідженні вмісту білкових фракцій в сироватці крові хворих на РТНЗ після проведеного лікування виявили, що в основній групі пацієнтів показники були на рівні контрольної групи здорових донорів. У групах порівняння виявлено достовірне підвищення  $\alpha$ 1-фракції глобулінів (в 1,6 рази) і зниження  $\gamma$ -фракції глобулінів (в 1,2 рази) в порівнянні з контрольними величинами.

Збільшення  $\alpha$ 1-фракції глобулінів відбувалося за рахунок збільшення концентрації стресових білків і кислих глікопротеїнів, а зниження  $\gamma$ -глобулінової фракції - за рахунок споживання глобулінів при утворенні ЦК.

При дослідженні ліпідного обміну у хворих із РТНЗ після лікування у групах порівняння було виявлено достовірне зниження щодо контрольних величин за вмістом холестерину (в 1,3 рази), ліпопротеїдів високої щільності (в 2,3 рази), тригліцеридів (в 1,7 рази). Також значно був знижений коефіцієнт атерогенності в цих групах - в середньому в 2 рази в порівнянні з контролем. Що стосується основної групи, тут відзначали дворазове збільшення концентрації ліпопротеїдів високої щільності і деяке зниження коефіцієнта

атерогенності (в 1,5 рази) в порівнянні з контрольною групою умовно-здорових донорів.

Найбільш виражене зниження суб'єктивної симптоматики у пацієнтів із РТНЗ було відзначено у пацієнтів основної групи, які отримували комбіновану терапію з включенням сучасних схем лікування, де у більшості хворих відзначався значний регрес (на 51,3%) скарг, що спостерігалися в початковому стані. У групі порівняння I, до кінця лікування скарги хворих були менш вираженими, але знизилися в середньому на 21%, а в групі порівняння II зниження відмічено всього на 16,5%.

Показники гуморального імунітету змінювалися наступним чином: рівень ЦІК малого розміру у хворих в 1 групі порівняння, які отримали базисну терапію, спочатку був вищим, ніж у групі контролю на 21,1% ( $p < 0,05$ ), залишаючись без змін при виписці.

В основній групі пацієнтів, які отримували комплексне лікування за схемою, методику якої було розроблено у клініці (комплексне лікування за схемою, методику якої було розроблено у клініці (базисне лікування, що включало: виконання хірургічного втручання, антибіотикотерапію, місцеве використання 0,02% розчину Декасана, із лікуванням медичним імунобіологічним препаратом «Гемокорд-Кріоцелл» на протязі 7 діб, а також додатково сеанси VАС-терапії на протязі 5 діб), показник ЦІК також був вищим за контроль на 32,9% ( $p < 0,01$ ), знизившись до кінця лікування на 14% ( $p < 0,05$ ), не досягнувши, однак, значень умовно-здорових донорів контрольної групи. ІgА в 1-й і 2-й групах порівняння до початку лікування був вищим за контрольні дані на 43,2% ( $p < 0,05$ ) і 35,3% ( $p < 0,05$ ), відповідно. На тлі досліджуваних видів терапії рівень ІgА мав тенденцію до зниження в 1 групі порівняння і знизився в основній групі до розробленої схеми лікування на 18,3% ( $p < 0,05$ ), досягнувши рівня значень умовно-здорових донорів контрольної групи. ІgG в контрольній групі становив  $1235,0 \pm 66,14$  мг%, в 1 групі порівняння показник значних коливань не мав, не відрізняючись від контролю. В основній групі рівень ІgG мав тенденцію до зниження на 5,9% ( $p >$

0,05), досягнувши значення  $972,5 \pm 35,18$  мг%, що було нижчим, ніж у групі контролю на 21,3% ( $p < 0,05$ ). Рівень IgM спочатку в 1-й і 2-й групах порівняння був нижчим за показник умовно-здорових донорів на 27,2% ( $p < 0,05$ ) і 31,1% ( $p < 0,05$ ), відповідно.

До кінця лікування показник мав тенденцію до підвищення у всіх досліджуваних групах. Значення НСТ-тесту, СЦК НСТ-тесту, активності фагоцитозу як до-, так і після проведеного лікування у всіх досліджуваних групах значущих відхилень від контрольних даних не мали.

Динаміка значень цитокінового профілю характеризувалася різнонаправленістю змін. Так, ІЛ-1 спочатку був вищим за значення контролю у пацієнтів всіх досліджуваних груп ( $p < 0,05$ ) і до кінця проведеної терапії мав достовірне зниження. Рівень протизапального ІЛ-4 в основній групі початково був нижчим за контроль ( $p < 0,05$ ) і мав достовірне зростання ( $p < 0,05$ ), в 1-й групі порівняння показник не відрізнявся від умовно-здорових донорів контрольної групи і не змінився на тлі лікування. ІЛ-8, який є прозапальним, до початку лікування у всіх досліджуваних групах достовірно від контрольних значень не відрізнявся, знизившись, однак, при виписці в основній групі ( $p < 0,05$ ).

Показники активності еластази, колагенолітичної активності та вмісту глікоаміногліканов сироватки крові при РТНЗ в прогресуючій стадії слід вважати прогностично значущими в динаміці патогенетичної терапії, що проводиться. Ці показники дозволяють проводити диференційну діагностику, вибір комплексного лікування, що забезпечує підвищення ефективності лікування пацієнтів із РТНЗ. Найбільш високі рівні активності протеїназ відзначалися у хворих на РТНЗ і були пов'язані з накопиченням значних концентрацій глікозоаміногліканів в сироватці крові. Результати дослідження свідчать, що РТНЗ супроводжувалося порушеннями метаболічного обміну сполучної тканини, які пов'язані з активацією протеїназ і накопиченням в сироватці крові глікозоаміногліканів. Високий кореляційний зв'язок між динамікою активності еластази, колагенолітичною активністю (за

оксипроліном) та вмістом глікозоаміногліканів сироватки крові при РТНЗ дозволяє використовувати ці критеріальні показники як прогностично значущі в динаміці патогенетичного лікування, що проводиться.

Таким чином, проведене дослідження демонструє, що поліпшення загального стану хворих завжди є головною метою проведеної комплексної терапії РТНЗ. Результати проведених досліджень свідчать про патогенетичну спрямованість комплексного застосування терапії на основі запропонованої і розробленої нової сучасної схеми комплексного патогенетичного лікування, включно із застосуванням у лікувальному процесі медичного імунобіологічного препарату кордової крові людини «Гемокорд-Кріоцелл» разом із проведенням VАС-терапії на тлі існуючої традиційної базисної терапії.

Резюмуючи отримані дані, можна стверджувати, що розроблений нами комбінований спосіб хірургічного лікування є патогенетично обґрунтованим, високоефективним способом терапії та профілактики ускладнень у хворих із РТНЗ. До того ж безпечне застосування, доступність запропонованої схеми комплексної терапії обґрунтовують доцільність використання засобів, які покращують стан сполучної тканини в лікуванні хворих на РТНЗ і дозволяють їх рекомендувати для впровадження у практику охорони здоров'я.

Впровадження результатів проведеного дослідження в практику роботи та навчальний проці кафедри хірургії №2 ХНМУ, кафедри хірургії №1 ХНМУ, ДУ «ІЗНХ ім. В.Т. Зайцева НАМН України», а також хірургічного відділення КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня» та хірургічного відділення КНП «17 міська клінічна лікарня», а також хірургічних відділень КНП «Мерефянська ЦРЛ» та КНП «Чугуївська ЦРЛ» дозволило оптимізувати результати лікування хворих на РТНЗ, сприяло зниженню ліжко-дня і поліпшенню якості їхнього життя в майбутньому.

Слід підкреслити, що завдяки клінічному впровадженню розробленої нової сучасної схеми комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ (препарат кріоконсервованої кордової крові людини «Гемокорд-Кріоцелл» +ВАК-терапія) досягнуто сприятливих результатів і більш високої лікувально-

терапевтичної ефективності, а саме: відсоток появи грануляцій був достовірно вище з п'ятої доби лікування, а кількість некротичних тканин у рані – ставала явно нижчою з десятої доби лікування, що підтверджено методом комп'ютерного моніторингу; достовірне скорочення числа перев'язок склало з 10,7 до 5,0 на одного хворого, тенденція до зменшення кількості некретомій з 1,1 до 0,7, що в результаті реально позначилося на зменшенні тривалості перебування в стаціонарі. При цьому середній термін госпіталізації пацієнтів в основній групі становив  $13,2 \pm 1,0$  к/д, а середнє значення в групах порівняння -  $17,9 \pm 1,1$  к/д ( $p < 0,01$ ), тобто в 1,5 разів, що супроводжувалося поліпшенням загального стану, загоєнням рани, нормалізацією імунологічних і біохімічних показників, а також маркерів структурно-метаболичного стану СТ.

Сподіваємося, що отримані нами нові дані і практичні результати будуть корисними для медичної науки і практичної охорони здоров'я України.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне обґрунтування необхідності та нове вирішення наукового завдання, що полягає в підвищенні ефективності діагностики та лікування хворих на РТНЗ шляхом розробки комплексного методу терапії з урахуванням клініко-патогенетичної ролі синдрому метаболічної та імунної дисфункції. Враховуючи розповсюдженість РТНЗ, важкий перебіг захворювання з послідуєчим формуванням стійких осередків атрофії та ущільнення шкіри, а також недостатню ефективність існуючої традиційної базисної терапії та невирішеність питань діагностики прогресування захворювання, розв'язання цього завдання є актуальним для сучасної практичної хірургії.

1. При вивченні клініко-епідеміологічних аспектів і клінічних проявів РТНЗ на сучасному етапі за даними клініки встановлено, що під нашим спостереженням перебувало 107 хворих із ранами, що тривало не загоюються (РТНЗ), які знаходилися на стаціонарному лікуванні у хірургічному відділенні КНП ХОР «Обласна клінічна лікарня» з 2020 по 2024 рр. Серед пацієнтів було 21 (19,58 %) чоловіків та 86 (80,41 %) жінок віком 21-70 років. При вивченні клінічних проявів у хворих із РТНЗ виявлено високу частоту захворювання серед осіб працездатного віку (83 пацієнтів – 77,31 %), значне переважання (в 4,1 рази) жінок серед обстежених хворих. Початок захворювання в середньому відбувався у віці 46-60 років, при цьому середній вік складав  $48,24 \pm 2,94$  роки. Найчисельнішу групу склали 64 (60,0%) хворих із тривалістю захворювання на момент обстеження від 6 місяців до 1 року.

2. За результатами комплексного обстеження хворих із РТНЗ залежно від загального стану було виявлено підвищення рівня ендогенної інтоксикації (на 20 %), що відбувалося на тлі зниження експресії антигенних маркерів CD3+ (на 29 %) та CD8+ (на 19 %). У декількох хворих (4 пацієнти) виявлено наявність антитіл до нативної ДНК, що підкреслювало наявність аутоімунного

компоненту. Збільшення концентрації СРБ (у 4 рази) вказувало на перебіг гострої фази запального процесу. Зміна вмісту білкових і ліпідних фракцій розглядалась як додаткові фактори порушення регуляторних і регенеративних функцій на рівні структурної організації клітинних мембран. Значне збільшення рівня еластази (на 35 %), ГАГ (на 27 %), КЛА плазми крові за оксипроліном (на 57 %) вказувало на незадовільний структурно-метаболічний стан СТ та його вплив на регрес формування метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

3. За методикою клініки розроблено «Спосіб клініко-лабораторного моніторингу проведення комплексного хірургічного лікування» із визначенням вмісту ГАГ, активності ферментів еластази та КЛА сироватки крові за сумарною кількістю вільного та пептидно-зв'язаного оксипроліну. Найбільш високі значення оксипроліну виявилися у пацієнтів із РТНЗ до лікування –  $(34,3 \pm 3,6)$  мкмоль оксипроліна/л·г, а також після лікування в I та II групах порівняння ( $[31,8 \pm 4,3]$  і  $[28,4 \pm 3,5]$  мкмоль оксипроліну/л·г). При цьому в основній групі зафіксовано значне зниження цього показника майже вдвічі –  $(16,8 \pm 6,4)$  мкмоль оксипроліну/л·г порівняно з показниками хворих із РТНЗ до лікування. Однак ці рівні після проведеного лікування були значно нижчими, ніж показники у пацієнтів I і II груп порівняння. Рівні КЛА плазми крові у пацієнтів із РТНЗ до лікування перевищували дані умовно-здорових пацієнтів, що забезпечує цьому показнику важливе діагностичне і прогностичне значення при визначенні ступеня регресу розвитку синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ.

4. Після використання терапії на основі запропонованої і розробленої нової сучасної схеми комплексного патогенетичного лікування, включно із застосуванням у лікувальному процесі медичного імунобіологічного препарату кордової крові людини «Гемокорд-Кріоцелл» разом із проведенням VАС-терапії на тлі існуючої традиційної базисної терапії отримано наступні результати. Рівень бактеріального забруднення становив  $4,72 \pm 0,62$  CFU/ml,  $3,65 \pm 0,73$  CFU/ml та  $2,89 \pm 0,43$  CFU/ml відповідно в трьох групах хворих

( $P_1=0,000$ ,  $P_2=0,000$ ,  $P_3=0,000$ ). Площа ран зменшилась і становила: в основній групі порівняння –  $32,7 \pm 11,14$  см<sup>2</sup>; в II групі порівняння –  $46,54 \pm 10,56$  см<sup>2</sup>; в I групі порівняння –  $55,67 \pm 10,56$  см<sup>2</sup>. У середньому у хворих основної групи застосовували  $1,4 \pm 0,11$  VAC-пов'язки ( $P=0,002$ ).

5. Виявлена тенденція до нормалізації основних імунологічних показників (індекс завершення фагоцитозу, концентрація пептидів середньої молекулярної маси, циркулюючих імунних комплексів, лімфоцитотоксичність, експресія основних кластерів диференцировки Т-клітин), що є позитивним прогностичним проявом клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції у хворих із РТНЗ. Різностямовані зміни концентрації інтерлейкінів безсумнівно свідчать про їх участь у механізмах, що супроводжують перебіг РТНЗ. Насамперед, це прозапальні інтерлейкіни ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ІЛ-8. Збільшення рівня протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 вказує на активацію механізмів, спрямованих на згасання патологічного процесу, очищення та загоєння ран.

6. Завдяки клінічному використанню розробленої нової сучасної схеми комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ досягнуто сприятливих результатів і більш високої лікувально-терапевтичної ефективності, а саме: відсоток появи грануляцій був достовірно вище з п'ятої доби лікування, а кількість некротичних тканин у рані – ставала явно нижчою з десятої доби лікування, що підтверджено методом комп'ютерного моніторингу; достовірне скорочення числа перев'язок склало з 10,7 до 5,0 на одного хворого, тенденція до зменшення кількості некротомій з 1,1 до 0,7, що в результаті реально позначилося на зменшенні тривалості перебування в стаціонарі. При цьому середній термін госпіталізації пацієнтів в основній групі становив  $13,2 \pm 1,0$  к/д, а середнє значення в групах порівняння -  $17,9 \pm 1,1$  к/д ( $p < 0,01$ ), тобто в 1,5 разів, що супроводжувалося поліпшенням загального стану, загоєнням рани, нормалізацією імунологічних і біохімічних показників, а також маркерів структурно-метаболічного стану СТ.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для клінічного використання пропонується нова сучасна розроблена й впроваджена схема комплексного хірургічного лікування хворих із РТНЗ, що включає: проведення базисної терапії, яка передбачає застосування антибактеріальних, антифіброзних, дезінтоксикаційних, вазоактивних, нестероїдних протизапальних препаратів, гепатопротекторів, вітамінів за стандартними методиками; місцеве накладання топічних протизапальних і розсмоктуючих засобів із додатковим використанням фізіотерапевтичних методів. На тлі базисної терапії слід виконувати хірургічне втручання, проводити терапію із місцевим використанням 0,02% розчину Декасана, а також із лікуванням медичним імунобіологічним препаратом «Кріоцелл-Кріокорд» на протязі 7 діб і додатковим проведенням сеансів VАС-терапії на протязі 5 діб.

2. Для оцінки ефективності лікування в клініці доцільно користуватися розробленим і впровадженим «Способом клініко-лабораторного моніторингу проведення комплексного хірургічного лікування» із визначенням вмісту ГАГ, активності ферментів еластази та КЛА сироватки крові за сумарною кількістю вільного та пептидно-зв'язаного оксипроліну.

3. Для зазначення прогнозу клінічного перебігу ранового процесу і механізмів розвитку та формування синдрому метаболічної та імунної дисфункції, а також результату лікування хворих із РТНЗ після проведеної комплексної терапії рекомендується лабораторна діагностика і моніторинг наступних специфічних молекулярних і біохімічних маркерів, як критеріальних показників, що характеризують стан біоенергетичних процесів імунологічного контролю і ступінь агресивності процесу: рівню протизапальних цитокінів ІЛ-4 і ІЛ-10, а також прозапальних цитокінів - ФНП- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-8 та ІЛ-1 $\beta$ .

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Айдарова В. С., Кудокоцева О. В., Ломакин И. И., Бабийчук Г. А. Возможности использования клеток кордовой крови в неврологии. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2016. 26(2). 103-115. Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/KrioBiol\\_2016\\_26\\_2\\_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/KrioBiol_2016_26_2_3).
2. Андрищенко В.П., Ващук В.В., Герич Г.І, Хомченко Т.В. Інфекції шкіри і м'яких тканин: сучасні погляди і стратегія антибіотикотерапії. Здоров'я України (Тематичний номер). 2017. 2(28).12-14.
3. Антителообразование к эластину и эластазе у больных диффузными заболеваниями соединительной ткани / Ред. И.П. Гонтарь. Мед. альманах. 2012. 2(21). 79–81.
4. Белай В.С., Шевченко В.П., Даниленко І.А. Особливості застосування композитних матеріалів для лікування гнійних ран нижніх кінцівок без застосування антибіотиків Харківська хірургічна школа. 2022. 4-5(115-116) 95-100. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.4-5.2022.19>.
5. Біляєва О. О., Балінська М. І., Крижевський Є. Є., Радкевич В. П., Щеглюк Р. П. Ефективність комплексного лікування хронічної венозної недостатності з трофічними виразками нижніх кінцівок у хворих похилого та старечого віку. Збірник наукових робіт ХХІV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. С. 322-323.
6. Бойко В.В., Невзоров В.П., Невзорова О.Ф., Замятін П.М. Системна, ультраструктурна і хвильова морфометрія. Харків: Колегіум, 2019, 296 с. ISBN 987-617-7687-04-6.
7. Винник Ю.С., Микитин І.Л., Пахомова Р.А., Якимов С.В., Кочетова Л.В. Лечение больных с длительно незаживающими ранами сосудистого генеза. Сучасні проблеми науки і освіти. 2019.6.; URL: <http://www.science-education./article/view?id=11169> (31.12.2020).

8. Герасимчук П. О., Цвях А. І., Господарський А. Я. Перспективи викоритстання телемедицини технологій в лікуванні хворих на синдром стопи діабетика. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. С. 336-337.
9. Герасимчук П. О., Д. Б. Фіра, А. В. Павлишин. Вакуумна терапія в лікуванні ран у хворих на синдром діабетичної стопи. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. С. 337-338.
10. Гольцев К.А., Криворучко І.А., Іванова Ю.В., Чеверда В.М. Лікування гнійних ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються, за допомогою VAC-терапії. Харківська хірургічна школа, 2021.3(108).38-42, DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2021.08>
11. Гольцев К.А., Криворучко І.А., Гольцев А.М., Пархоменко К.Ю., Чеверда В.М. Вплив тучних клітин на патогенетичні ланки механізмів запалення у хворих із гнійними ранами, що тривало не загоюються. Харківська хірургічна школа 2020. 4(103) 43-47. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.4.2020.08>
12. Гольцев К.А., І.А. Криворучко, А.М. Гольцев, А.В. Сивожелезов, Н.О. Сикал, О.А. Тонкоглас. Сучасні підходи до комплексного хірургічного лікування гнійних ран, що тривало не загоюються. Харківська хірургічна школа 2020.5-6(104-105) 61-66. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.5-6.2020.11>
13. Гольцев К.А. Використання вакуумної терапії в комплексному хірургічному лікуванні ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються. Харківська хірургічна школа. 2022. 6(117). 35-49. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.6.2022.08>.
14. Гольцев К.А., Криворучко І.А., Чеверда В.М. Особливості патогенезу гнійних ран нижніх кінцівок, що довго не гояться (1). 2023.1–2(118–119). 157-165. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.1-2.2023.32>.
15. Гольцев К.А., Криворучко І.А., Чеверда В.М. Особливості патогенезу гнійних ран нижніх кінцівок, що довго не гояться (2)-огляд літератури.

- Харківська хірургічна школа. 2023. 3(120). 81-89.  
DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.3.2023.15>.
16. Гольцев К.А., Криворучко І.А., Гольцев А.М., Іванова Ю.В., Чеверда В.М., Мясоєдов К.В. Використання сучасних кріометодів в комплексному хірургічному лікуванні пацієнтів із гнійними ранами, що тривало не загоюються. *Problems of Cryobiology & Cryomedicine / Problemy Kriobiologii i Kriomedicyny*, 2021, Vol 31, Issue 2, p109  
DOI:10.15407/cryo31/102/09.
17. Гольцев АМ, Тараннік ГК, Гриша І Г, Сокіл Л В, Бондарович МО, Останков МВ, Луценко ОД, Гольцев КА, Останкова ЛВ. Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини Патент на корисну модель UA 113006, МПК А01N 1/02, Заявл. 06.06.2016, №201606081, Опубл. 10.01.2017, бюл. №1.
18. Гольцев А.М., Мосійчук В.В., Гольцев К.А., Тараннік Г.К., Сокіл Л.В., Останков М.В., Бондарович М.О., Гриша І.Г., Чернищенко Л.Г. Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини. Патент України на корисну модель № 117780, МПК А01N 1/02, Заявл. 04.01.2017, № u 2017 00170, Публ. 10.07.2017, Бюл. № 13.
19. Гончаренко О. В., Жмур А. А., Мазур В. П. Комплексне лікування гнійно–некротичних ран у пацієнтів з цукровим діабетом та хронічною ішемією нижніх кінцівок. *Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України*. Київ, 2018. С. 340-341.
20. Дибкалюк С. В., Черняк В. А., Мішалов В. Г., Герцен Г. І. Трофічні гнійно–некротичні ураження верхньої кінцівки при компресійних синдромах в брахіоцефальній області *Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України*. Київ, 2018. 421-422.
21. Домбровський Д.Б., Савін В.В., Пшиборовська Ю.Р. Трансплантація клітин кордової крові як метод лікування хворих з дистальним ураженням артерій нижніх кінцівок. “*Вісник Вінницького національного медичного університету*”, 2018, 22, 3, 32-37.

22. 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. 412-416.
23. Драницина А.С., Табурець О.В., Дворщенко К.О., Гребіник Д.М., Берегова, Т.В., Остапченко Л.І. Молекулярні маркери ефективного загоєння безкелоїдних ран. I88N 0201-8489 Фізіол. журн., 2017, 63(3). 68-79.
24. Дужий І. Д., Ніколаєнко А. С., Попадинець В. М. Нові підходи до лікування трофічних виразок на тлі цукрового діабету. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 344-345.
25. Дужий І. Д., Попадинець В. М., Кисляков В. П., Ніколаєнко А. С. Діагностична цінність визначення рівня нейтрофільної еластази крові у прогнозуванні перебігу трофічних венозних виразок нижніх кінцівок. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 245-346.
26. Желіба М. Д., Богачук М. Г. Зміни локальної мікроциркуляції в гнійного–запальному вогнищі у хворих на цукровий діабет 2 типу. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 346-347.
27. Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Дорошенко А. І., Риженко І. М., Клименко О. В. Перспективи розробки іноваційного нанокompозиту з сорбційними та протимікробними властивостями. ІББМ 2077-4214. Вісник проблем біології і медицини 2019 Вип. 1. 1(148). С. 38-42.
28. Зарезенко Т. П., Жмур А. А., Балабуєва В. В., Кацал В. А., Вовчук І. М. Характеристика цитокінового профілю хворих з синдромом діабетичної стопи. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 348-349.

- 29.Заруцький Я. Л., Асланян С. А., Компанієць А. О. Вакуумні пов'язки в хірургічному лікуванні поранених з великими дефектами м'яких тканин Одеський медичний журнал, 2017; 3 (161): 47-51.
- 30.Заруцький Я. Л., Асланян С. А., Компанієць А. О. Застосування вакуум-терапії при пораненнях і травмах різної локалізації. Пластична та реконструктивна хірургія 2018; 4: 40-47
- 31.Заруцький Я. Л., Пліс І. Б., Асланян С. А., Компанієць А. О., Гончарук С. В. Application of NPWT in the surgical treatment of wounds and injuries of various locations - case series. The Negative Pressure Wound. Therapy Journal. 2018; 5 (3): 10-15.
- 32.Заруцький Я.Л., Компанієць А.О., Мандрусяк С.Л. Сучасний алгоритм пластичної реконструкції шкірного покриву при ранових дефектах. Військова медицина України. 2018; 2 (18): 48-55.
- 33.Иванова Ю.В., Пуляева И.С., Кириенко Д.А. Комплексное лечение длительно незаживающих ран у больных с сахарным диабетом. Харківська хірургічна школа», № 3-4(90-91) 2018,,46-50.
- 34.Калмыкова Н.В., Андреев-Андриевский А.А., Демьяненко И.А., Манских В.Н., Лагерева Е.А., Попова А.С. Стимулирующий эффект различных форм коллагеновых раневых покрытий на процесс эпителизации ран кожи. Біомедицина, 2017. 4. 85-96.
- 35.Кірімов В. І., Дрюк М. Ф., Барна І. Є. Роль та місце аутогенних клітин кістковомозкового та адіпогенного походження у лікуванні трофічних виразок та хронічних ран. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 427-428.
- 36.Кітченко С. С., Дехтярук І. А. Застосування місцевої вакуум-терапії та клітин аутоліпоаспірату в комплексному лікуванні трофічних виразок нижніх кінцівок венозної етіології. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 359-351.
- 37.Ковалёв ГА, Ищенко ИО, Наумова ОВ, и др. Морфологическая характеристика дермы при лечении ран криоконсервированной

- сывороткой кордовой крови. Вісник Української медичної стоматологічної академії «Актуальні проблеми сучасної медицини».2015;15(51):212-17.
- 38.Коваленко О. М., Осадча О. І., Коваленко А. О., Назаренко В. М. Лікування поширених гнійних ран різної етіології. Періопераційна медицина. 2019.Том 2(2). 31-37. DOI: 10.31636/prmd.v2i2.5.
- 39.Коваль А.К., Луценко Е.Д., Гриша И.Г., Сокол Л.В., Бондарович Н.А., Останков М.В., Ямпольская Е.Е., Останкова Л.В., Гольцев К.А. Влияние лиофилизации на сохранность структурно-функциональных характеристик лейкоконцентрата кордовой крови человека. Проблемы кріобіології і кріомедицини. 2019. 29(4). 333-343. DOI:<https://doi.org/10.15407/cryo29.04.332>.
- 40.Компанієць А.О. Застосування методу вакуум-терапії в хірургічному лікуванні обширних дефектів шкіри та м'яких тканин. Сбірник тез міжнародної конференції "Регенеративные технологии в современной медицине". К., 2017; с.23.
- 41.Компанієць А. О. Вакуумні пов'язки в хірургічному лікуванні поранених з дефектами м'яких тканин при бойовій травмі. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.03 «Хірургія» (222 - Медицина). – УВМА, МО України, НМАПО ім. П. Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2018. 150 с.
- 42.Кондратенко П. Г., Русин В. І. Хірургія. (в 2-х томах). Т. 2. Вінниця, Видавництво "Нова Книга", 2019. 704 с.
- 43.Літвінова Н. Ю., В. А. Черняк, О. І. Кефелі–Яновська, Д. Є. Дубенко. Трансплантація аутологічних стовбурових клітин, виділених із жирової тканини в комплексному лікуванні хронічної ішемії нижніх кінцівок. Збірник наукових робіт ХХІV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 360.
- 44.Личман В. О., Аветіков Д. С., Стебловський Д. В. Застосування кріоекстракту плаценти в комплексному лікуванні флегмон щелепно–

- лицевої локалізації. Збірник трудов науково-практ. конф. «Сучасні аспекти теоретичної та практичної стоматології», Чернівці, 2020. 24-25.
45. Миронов П.Ф., Бугайов В.І., Медведєва І.М., Миронова М.М. "Цитологічна характеристика експериментальних гнійних ран, що тривало не загоюються, при лікуванні наночастинками срібла" Харківська хірургічна школа». 2020. 4-5. 41-45.
46. Носенко О. А., Русин В. В, Попович Я. М., Кочмарь О. М. Хірургічне лікування венозних трофічних виразок нижніх кінцівок. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 371-373.
47. Олешко А.Н. Анатомо-експериментальное обоснование применения хитозановых мембран для пластики механических дефектов кожи в возрастном аспекте. Дис. на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - Сумский государственный университет, Суми, 2017. 117 с.
48. Петренко О. М., Зубов Д. О., Родніченко А. Є., Безродний Б. Г. Застосування клітинних технологій в лікуванні хронічних ранових дефектів. Вісник проблем біології і медицини - 2016 - Вип. 4, 1(133). 171-175.
49. Рибалка Я. В., Малик С. В. Динаміка цитологічної картини ранового процесу у пацієнтів з хронічними ранами при застосуванні PRP-терапії. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 441-442.
50. Рибалка Я. В. Оптимізація лікування хронічних ран із застосуванням РКР-терапії. Дис. на здобуття наукового ступеня канд. м. наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.03 «Хірургія». - Українська медична стоматологічна академія МОЗ України, Полтава, 2018. 131 с.
51. Теплий В. В., Гребченко К. М. Методика використання вакуумної терапії для прискорення закриття ран, які загоюються вторинним натягом, та профілактики патологічного рубцювання. Хірургія, України, 2018. 4. 48-53.

- 52.Торопов О. А., Аветіков Д. С., Стебловський Д. В. Гістотопографічне обґрунтування доцільності застосування кріоконсервованої плаценти на інтро та післяопераціоному етапі профілактики патологічних рубців голови та шиї. Матеріали V міжнародної науково- практичної інтернет-конференції «Сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та виробництва: міжгалузеві диспути» [зб. наук. пр.]. Київ, 2020. 131-132.
- 53.Черняк В. А., Заруцький Я. Л, Мішалов В. Г., Літвінова Н. Ю., Дибкалюк С. В., Король С. О., Карпенко К. К. Діагностика, лікування і контроль трофічних виразок нижніх кінцівок різного генезу. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 399-400.
- 54.Шаповал С. Д, Трибушний О. В., Савон І. Л., Слободченко Л. Ю. Прокальцитонін, С–реактивний білок та цитокіновий статус у хворих на гнійно–запальні процеси стопи діабетика і сепсис. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 404-405.
- 55.Шулик М. Б., Цуркан К. Л., Сопілка В. В.. Клініко–анатомічне обґрунтування економних ампутацій в хірургічному лікуванні гнійно–некротичних ускладнень при синдромі діабетичної стопи. Збірник наукових робіт XXIV з'їзду хірургів України. Київ, 2018. 408-409.
- 56.Afkhamizadeh M., Aboutorabi R., Ravari H., Najafi M. F. [et al.] -Topical propolis improves wound healing in patients with diabetic foot ulcers: a randomized controlled trial.Natural Product Research. 2018. Vol. 32(17). 2096-99.
- 57.Aghayan HR, Hosseini MS, Gholami M, Mohamadi-Jahani F, Tayanloo-Beik A, Alavi-Moghadam S, Payab M, Goodarzi P, Abdollahi M, Larijani B, Arjmand B.Mesenchymal stem cells' seeded amniotic membrane as a tissue-engineered dressing for wound healingDrug Deliv Transl Res. 2022 Mar;12(3):538-549. doi: 10.1007/s13346-021-00952-3. Epub 2021 Mar 6.PMID: 33677794.
- 58.Alavi M, Rai M. Topical delivery of growth factors and metal/metal oxide nanoparticles to infected wounds by polymeric nanoparticles: an overview.

- Expert Rev Anti Infect Ther. 2020 Oct;18(10):1021-32. doi:10.1080/14787210.2020.1782740.
59. Alioui H, Bouras O, Bollinger JC. Toward an efficient antibacterial agent: Zn- and Mg-doped hydroxyapatite nanopowders. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* [Internet]. 2019 [cited 2021 Dec 15];54(4):315-27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30633639/> doi: 10.1080/10934529.2018.1550292.
60. Alves Paulo J, Barreto Ruben T, Barrois Brigitte M, Gryson Luc G, Meaume Sylvie, Monstrey Stan J. Update on the role of antiseptics in the management of chronic wounds with critical colonisation and/or biofilm. *Int Wound J*. 2021;18(3):342-358. doi: 10.1111/iwj.13537. Epub 2020 Dec 13.
61. Amiji MM. Surface modification of chitosan membranes by complexation-interpenetration of anionic polysaccharides for improved blood compatibility in hemodialysis. *J Biomater Sci Polym Ed* [Internet]. 1996 [cited 2021 Mar 3];8(4):281-98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9041042/> doi: 10.1163/156856296x00309.
62. Ammons MC. Anti-biofilm strategies and the need for innovations in wound care. *Recent patents on anti-infective drug discovery* [Internet]. 2010 Jan [cited 2021 Jan 14];5(1):10-7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19807676/> doi: 10.2174/157489110790112581.
63. Anthony D. *Statistics for Health? Life and Social Sciences*. Ventus Publishing Aps, United Kingdom. University of Essex, 2011. 292 p.
64. Antosiak-Iwańska M, Bączal P, Kazimierczak B, Kwiatkowska A, Godlewska E, Grzeczkowicz A, Stachowiak R, Bielecki J, Granicka L. Polyelectrolyte Membrane with Hydroxyapatite and Silver Nanoparticles as a Material for Modern Wound Dressings. *J Biomed Nanotechnol* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2021 Aug 18];16(5):702-14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32919489/> doi: 10.1166/jbn.2020.2907.

65. Arjmand B, Alavi-Moghadam S, Sarvari M, Rezaei-Tavirani M, Rezazadeh-Mafi A, Arjmand R, Nikandish M, Nasli-Esfahani E, Larijani B. Critical roles of cytokine storm and bacterial infection in patients with COVID-19: therapeutic potential of mesenchymal stem cells. *Inflammopharmacology*. 2023 Feb;31(1):171-206. doi: 10.1007/s10787-022-01132-6. Epub 2023 Jan 4. PMID: 36600055.
66. Atiakshin D., Samoilova V, Buchwalow I., Boecker W. [et al.]. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification. *Histochemistry and Cell Biology*. - 2017. - Vol. 147(6). 683-694.
67. Atiakshin D., Buchwalow I., Samoilova V., Tiemann M. [et al.]. Tryptase as a polyfunctional component of mast cells / - Text : visual // *Histochem. Cell Biol.* - 2018. - Vol. 149(5). 461-477.
68. Awasthi A, Singh SK, Kumar B, Gulati M, Kumar R, Wadhwa S, Khursheed R, Corrie L, Kr A, Kumar R, Patni P, Kaur J, Vishwas S, Yadav A. Treatment Strategies Against Diabetic Foot Ulcer: Success so Far and the Road Ahead. *Curr Diabetes Rev.* 2021;17(4):421-436. doi: 10.2174/1573399816999201102125537. PMID: 33143613.
69. Bhoyar SD, Malhotra K, Madke B.J Dressing Materials: A Comprehensive Review. *Cutan Aesthet Surg.* 2023 Apr-Jun;16(2):81-89. doi: 10.4103/JCAS.JCAS\_163\_22. PMID: 37554675.
70. Biecek P. Analiza danych z programem R. Wydawnictwo naukowe PWN. Warszawa, 2012. 320 s.
71. Bigliardi PL, Alsagoff SAL, El-Kafrawi HY, et al. Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. *Int J Surg.* 2017; 44: 260-268.
72. Bilyayeva O. O., Neshta V. V., Golub A. A., Sams-Dodd F.. Comparative clinical study of the wound healing effects of a novel micropore particle technology: effects on wounds, venous leg ulcers, and diabetic foot ulcers / - Text : visual // *Wounds.* 2017. Vol. 29(8). 247-254.

73. Bilska A, Stangret A, Pyzlak M, Wojdasiewicz P, Szukiewicz D. Skin surface infrared thermography in pressure ulcer outcome prognosis. *J Wound Care*. 2020 Dec 2;29(12):707-718. doi: 10.12968/jowc.2020.29.12.707.PMID: 33320753.
74. Bosanquet DC, Ivins N, Jones N, Harding KG. Microcirculatory Flux and Pulsatility in Arterial Leg Ulcers is Increased by Intermittent Neuromuscular Electrostimulation of the Common Peroneal Nerve. *Ann Vasc Surg*. 2021 Feb;71:308-314. doi: 10.1016/j.avsg.2020.07.030. Epub 2020 Aug 5.PMID: 32768540.
75. Broderick VV, Cowan LJ. Pressure Injury Related to Friction and Shearing Forces in Older Adults. *Journal of Dermatology and Skin Science*. 2021 Jul 12;3(2).
76. Browse NL. The Etiology of venous ulceration. *World J Surg* [Internet]. 1986 Dec [cited 2021 Oct 9];10(6):938-43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3798942/> doi: 10.1007/BF01658644
77. Bull RH, Clements D, Collarte AJ, Harding KG. The impact of a new intervention for venous leg ulcers: A within-patient controlled trial. *Int Wound J*. 2023 Aug;20(6):2260-2268. doi: 10.1111/iwj.14107. Epub 2023 Feb 13.PMID: 36785909.
78. Bull RH, Clements D, Collarte AJ, Harding KG. A Novel Randomized Trial Protocol for Evaluating Wound Healing Interventions. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2023 Dec;12(12):671-679. doi: 10.1089/wound.2023.0058. Epub 2023 Sep 5.PMID: 37526355.
79. Burnouf T. Human platelet lysate: Replacing fetal bovine serum as a gold standard for human cell propagation? *Biomaterials*. 2016. Vol. 76. 371-387.
80. Caughey GH. Mast cell proteases as pharmacological targets. *Eur. J. Pharmacol*. 2016;778:44-55.
81. Cavallo I, Sivori F, Mastrofrancesco A, Abril E, Pontone M, Di Domenico EG, Pimpinelli F. Bacterial Biofilm in Chronic Wounds and Possible

- Therapeutic Approaches. *Biology (Basel)*. 2024 Feb 9;13(2):109. doi: 10.3390/biology13020109.PMID.
- 82.Chan AS, Montbriand J, Eisenberg N, Roche-Nagle G. Outcomes of minor amputations in patients with peripheral vascular disease over a 10-year period at a tertiary care institution. *Vascular*. 2019 Feb;27(1):8-18. doi: 10.1177/1708538118797544. Epub 2018 Aug 29.PMID: 30157719.
- 83.Chen J, Lopez CD, Girard AO, Abousy M, Redett RJ, Groves M, Yang R. Dehydrated human amnion/chorion membrane allografts for myelomeningocele and wound reconstruction. *Childs Nerv Syst*. 2021 Dec;37(12):3721-3731. doi: 10.1007/s00381-021-05352-z. Epub 2021 Oct 5.PMID: 34609611.
- 84.Chen P, Carville K, Swanson T, Lazzarini PA, Charles J, Cheney J, Prentice J. Australian guideline on wound healing interventions to enhance healing of foot ulcers: part of the 2021 Australian evidence-based guidelines for diabetes-related foot disease. Australian Diabetes-related Foot Disease Guidelines & Pathways Project. *J Foot Ankle Res*. 2022 May 25;15(1):40. doi: 10.1186/s13047-022-00544-5.
- 85.Choi Y.H., K.M. Kim, H.O. Kim [et al.]. Clinical and histological correlation in post-bum hypertrophic scar for pain and itching sensation. *Ann Dermatol*. 2024 Apr;36(2):120-122. doi: 10.5021/ad.21.101.PMID: 38576250.
- 86.Chung M-L, Widdel M, Kirchhoff J, Sellin J, Jelali M, Geiser F, Mucke M, Conrad R. Risk factors of pressure injuries in adult patients: A narrative synthesis. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(2):761.
- 87.Chuter V, Quigley F, Tosenovsky P, Ritter JC, Charles J, Cheney J, Fitridge R. Australian guideline on diagnosis and management of peripheral artery disease: part of the 2021 Australian evidence-based guidelines for diabetes-related foot disease. Australian Diabetes-related Foot Disease Guidelines & Pathways Project. *J Foot Ankle Res*. 2022 Jul 5;15(1):51. doi: 10.1186/s13047-022-00550-7.

88. Das SK, Dhoonmoon L, Bain D, Chhabra S. Microcirculatory changes in venous leg ulcers using intermittent electrostimulation of common peroneal nerve. *J Wound Care*. 2021 Feb 2;30(2):151-155. doi: 10.12968/jowc.2021.30.2.151.PMID: 33573484.
89. Das SK, Dhoonmoon L, Chhabra S. Neuromuscular stimulation of the common peroneal nerve increases arterial and venous velocity in patients with venous leg ulcers. *Int Wound J*. 2021 Apr;18(2):187-193. doi: 10.1111/iwj.13510. Epub 2020 Nov 25.PMID: 33236847.
90. De Souza Junior DA, Collawn JF, Ferrario CM [et al.]. Multifunctional Role of Chymase in Acute and Chronic Tissue Injury and Remodeling. *Circ. Res*. 2018. Vol. 122.319-336.
91. Dell'Italia LJ, Collawn JF, Ferrario CM. Multifunctional Role of Chymase in Acute and Chronic Tissue Injury and Remodeling. *J. Dell'Italia, Circ. Res*. 2018;122:319-36.
92. Demiralp B, Soltoff S, Koenig L. Hospital patients with severe wounds: early evidence on the impact of Medicare payment changes on treatment patterns and outcomes. *J Med Econ*. 2019 Mar;22(3):266-272. doi: 10.1080/13696998.2018.1559599. Epub 2019 Jan 5.PMID: 30547697.
93. Ebrahimi L, Samadikuchaksaraei A, Joghataei MT, Safa M, Abtahi Froushani SM, Ghasemian M, Zolfaghari S, Mozafari M, Brouki Milan P. Transplantation of decellularised human amniotic membranes seeded with mesenchymal stem cell-educated macrophages into animal models. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2022 Jul;110(7):1637-1650. doi: 10.1002/jbm.b.35024. Epub 2022 Feb 3. PMID: 35113492.
94. Elieh Ali Komi D, Wöhrl S, Bielory L. Mast Cell Biology at Molecular Level: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2020 Jun;58(3):342-365. doi: 10.1007/s12016-019-08769-2. PMID: 31828527.
95. Elseth A, Nunez Lopez O. Wound Grafts. 2020 Oct 28. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan—. PMID: 33232052.

96. Fernando ME, Horsley M, Jones S, Martin B, Nube VL, Charles J, Cheney J, Lazzarini PA Australian guideline on offloading treatment for foot ulcers: part of the 2021 Australian evidence-based guidelines for diabetes-related foot disease. *Australian Diabetes-related Foot Disease Guidelines & Pathways Project. J Foot Ankle Res.* 2022 May 5;15(1):31. doi: 10.1186/s13047-022-00538-3.
97. Fortaleza JAG, Ong CJN, De Jesus R. Efficacy and clinical potential of phage therapy in treating methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections: A review. *Eur J Microbiol Immunol (Bp).* 2024 Feb 2;14(1):13-25. doi: 10.1556/1886.2023.00064. Print 2024 Feb 23. PMID: 38305804.
98. Gadelkarim M, Abushouk AI, Ghanem E, Hamaad AM, Saad AM, Abdel-Daim MM. Adipose-derived stem cells: Effectiveness and advances in delivery in diabetic wound healing. *Biomed Pharmacother.* 2018 Nov; 107:625-633. doi: 10.1016/j.biopha.2018.08.013. Epub 2018 Aug 14. PMID: 30118878.
99. Goltsev K.A., Zamiatin P.N. Remote thermometric study of changed skin coats in patients with purulently non-healing wounds. *Deutscher Wissenschaftsherold. German Science Herald,* 2021. 1. 67-73. DOI:10.19221/202112.
100. Goltsev K.A., Krivoruchko I.A., Parkhomenko K.Yu. Modern approaches to comprehensive surgical treatment of patients with long-to-heal wounds. *Abstracts of II International Scientific and Practical Conference «Science and practical technologies».* January 26–29, 2021. Luxembourg. 236-240.
101. Groppa E, Colliva A, Vuerich R, Kocijan T, Zacchigna S. Immune Cell Therapies to Improve Regeneration and Revascularization of Non-Healing Wounds. *Int J Mol Sci.* 2020 Jul 23;21(15):5235. doi: 10.3390/ijms21155235. PMID: 32718071 PMCID: PMC7432547 DOI: 10.3390/ijms21155235.
102. Gude W, Hagan D, Abood F, Clausen P. Aurix Gel Is an Effective Intervention for Chronic Diabetic Foot Ulcers: A Pragmatic Randomized

- Controlled Trial. *Adv Skin Wound Care*. 2019 Sep;32(9):416-426. doi: 10.1097/01.ASW.0000577140.19174.9e.PMID: 31436621.
103. Han Y, Jiang Y, Li Y, Wang M, Fan T, Liu M, Ke Q, Xu H, Yi Z. An aligned porous electrospun fibrous scaffold with embedded asiatic acid for accelerating diabetic wound healing. *J Mater Chem B*. 2019 Oct 16;7(40):6125-6138. doi: 10.1039/c9tb01327j.PMID: 31553023.
104. Harris C, Ramage D, Bloorchi A, Vaughan L, Kuilder G, Rakas S. Using a muscle pump activator device to stimulate healing for non-healing lower leg wounds in long-term care residents. *Int Wound J*. 2019 Feb;16(1):266-274. doi: 10.1111/iwj.13027. Epub 2018 Nov 20.PMID: 30460740.
105. Hatzfeld AS, Pasquesoone L, Germain N, Danzé PM, Drucbert AS, Tardivel M, Bongiovanni A, Duquennoy-Martinot V, Guerreschi P, Marchetti P. Benefits of cryopreserved human amniotic membranes in association with conventional treatments in the management of full-thickness burns. *Int Wound J*. 2019 Dec;16(6):1354-1364. doi: 10.1111/iwj.13198. Epub 2019 Aug 19.PMID: 31429202.
106. Heeman I, Wido B. Clinical applications of laser speckle contrast imaging: a review. *Journal of biomedical optics*. – 2019. – №24(8). – P. 1–11.
107. Huang H, Xin R, Li X, Zhang X, Chen Z, Zhu Q, Tai Z, Bao L. Physical therapy in diabetic foot ulcer: Research progress and clinical application. *Int Wound J*. 2023 Oct;20(8):3417-3434. doi: 10.1111/iwj.14196. Epub 2023 Apr 24.PMID: 3709572.
108. Iconaru SL, Prodan AM, Buton N, Predoi D. Structural Characterization and Antifungal Studies of Zinc-Doped Hydroxyapatite Coatings. *Molecules* [Internet]. 2017 Apr 9 [cited 2021 Mar 17];22(4):604. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28397771/doi:10.3390/molecules22040604](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28397771/doi/10.3390/molecules22040604).
109. Ikuno T, Ito S, Inoue T. Human induced pluripotent stem cell-derived mast cells useful for in vitro mast cell activation assay exhibiting phenotypes and

- morphological characteristics of human mast cells. *J Toxicol Sci.* 2019;44(11):789-797. doi: 10.2131/jts.44.789.PMID: 31708535.
110. Informatyka medyczna/pod red. R. Rudowskiego. Wydawnictwo naukowe PWN. Warszawa, 2012. 250 s.
111. Ivanova Yu.V., Klimova E.M., Krivoruchko I.A., Korobov A.M, Prasol V.A., Myasoedov K.V. Phototherapy and Synthetic Wound Dressings in the Treatment of Trophic Ulcers of Venous Etiology. CAOL.2019, September 6-8 | SOZOPOL, BULGARIA.113-116.
112. Jakovljevic M, Al Ahdab S, Jurisevic M, Mouselli S. Antibiotic Resistance in Syria: A Local Problem Turns Into a lobal Threat. *Front Public Health.* 2018 Aug 2; 6:212.
113. Jhamb S, Vangaveti VN, Malabu H. Genetic and molecular basis of diabetic foot ulcers: clinical review.*J.Tissue viability.* 2016. Vol. 25(4). 229-36.
114. Joshi CJ, Hassan A, Carabano M, Galiano RD.Up-to-date role of the dehydrated human amnion/chorion membrane (AMNIOFIX) for wound healing.*Expert Opin Biol Ther.* 2020 Oct;20(10):1125-1131. doi: 10.1080/14712598.2020.1787979. Epub 2020 Jul 20.PMID: 32580594.
115. Karri VVSR, Kuppusamy G., Talluri S. V., Yamjala K. [et al.]. Current and emerging therapies in management of diabetic foot ulcers. *Current Medical Research and Opinion.* - 2016. - Vol. 32(3)519-542.
116. Kim HS, Sun X, Lee JH, Kim HW, Fu X, Leong KW. Advanced drug delivery systems and artificial skin grafts for skin wound healing. *Adv Drug Deliv Rev.*, 2019 Jun;146:209-239. doi: 10.1016/j.addr.2018.12.014. Epub 2018 Dec 31.PMID: 30605737.
117. Kirshenbaum AS, Yin Y, Sundstrom JB, Bandara G, Metcalfe DD. Description and Characterization of a Novel Human Mast Cell Line for Scientific Study. *Int J Mol Sci.* 2019 Nov 6;20(22):5520. doi: 10.3390/ijms20225520.PMID: 31698677.
118. Kondej K, Zawrzykraj M, Czerwiec K, Deptuła M, Tymińska A, Piłkuła M. Bioengineering Skin Substitutes for Wound Management-Perspectives and

- Challenges. *Int J Mol Sci.* 2024 Mar 26;25(7):3702. doi: 10.3390/ijms25073702. PMID: 38612513.
119. Koval AK, Lutsenko ED, Grisha IG, et al. Impact of lyophilisation on integrity of structural and functional characteristics of human cord blood leukoncentrate. *Probl cryobiol cryomed.* 2019; 29 (4): 333–43.
120. Kozak K. *Large Scale Data Handling in Biology.* Ventus Publishing Aps, United Kingdom. University of Essex, 2010. 53 p.
121. Krystel-Whittemore M, Dileepan KN, Wood JG. Mast cell: a multi-functional master cell. *Front Immunol.* 2016;6(620):1-12.
122. Kryvoruchko IA, Goltsev KA, Ivanova Yu V, Cheverda VM. The Use of Negative Pressure Wound Treatment of Chronic Non-Healing Wounds. *Acta Scientific Medical Sciences (ISSN: 2582-0931).* Vol.5 Issue 3 March 2021. ISSN: 2582-0931.
123. La Monica F, Campora S, Ghersi G. Collagen-Based Scaffolds for Chronic Skin Wound Treatment. *Gels.* 2024 Feb 8;10(2):137. doi: 10.3390/gels10020137.
124. Larouche J., Sheoran S., Maruyama K. [et al.]. Immune Regulation of Skin Wound Healing: Mechanisms and Novel Therapeutic Targets. *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2018. 7(7). 209–231.
125. Lauwers P, Dirinck E, Van Bouwel S, Verrijken A, Van Dessel K, Van Gils C, Sels M, Peiffer F, Van Schil P, De Block C, Hendriks J. Malnutrition and its relation with diabetic foot ulcer severity and outcome: a review. *Acta Clin Belg.* 2022 Feb;77(1):79-85. doi: 10.1080/17843286.2020.1800315. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32727304.
126. Lazzarini PA, Raspovic A, Prentice J, Commons RJ, Fitridge RA, Charles J, Cheney J, Purcell N, Twigg SM. Guidelines development protocol and findings: part of the 2021 Australian evidence-based guidelines for diabetes-related foot disease. *Australian Diabetes-related Foot Disease Guidelines & Pathways Project. J Foot Ankle Res.* 2022 Apr 19;15(1):28. doi: 10.1186/s13047-022-00533-8.

127. Lazzarini PA, Raspovic A, Prentice J, Commons RJ, Fitridge RA, Charles J, Cheney J, Purcell N, Twigg SM. Australian evidence-based guidelines for the prevention and management of diabetes-related foot disease: a guideline summary. *Med J Aust.* 2023 Nov 20;219(10):485-495. doi: 10.5694/mja2.52136. Epub 2023 Oct 23.
128. Lazzarini PA, Raspovic KM, Meloni M, van Netten JJ. A new declaration for feet's sake: Halving the global diabetic foot disease burden from 2% to 1% with next generation care. *Diabetes Metab Res Rev.* 2024 Mar;40(3):e3747. doi: 10.1002/dmrr.3747. Epub 2023 Nov 24.
129. Li Y, An S, Deng C, Xiao S. Human Acellular Amniotic Membrane as Skin Substitute and Biological Scaffold: A Review of Its Preparation, Preclinical Research, and Clinical Application. *Pharmaceutics.* 2023 Aug 30;15(9):2249. doi: 10.3390/pharmaceutics15092249. PMID: 37765218.
130. Matsuno T, Toyoshima S, Sakamoto-Sasaki T, Kashiwakura JI, Matsuda A, Watanabe Y, Azuma H, Kawana K, Yamamoto T, Okayama Y. Characterization of human decidual mast cells and establishment of a culture system. *Allergol Int.*, 2018; 67S:S18-S24. doi: 10.1016/j.alit.2018.05.001. Epub 2018 May 18. PMID: 29784282.
131. Mavrogonatou E, Konstantinou A, Kletsas D. Long-term exposure to TNF- $\alpha$  leads human skin fibroblasts to a p38 MAPK- and ROS-mediated premature senescence. *Biogerontology.* 2018 Jul;19(3-4):237-249. doi: 10.1007/s10522-018-9753-9. Epub 2018 Mar 26. PMID: 29582209.
132. Miatmoko A, Hariawan BS, Cahyani DM, Dewangga SS, Handoko KK, Purwati, Sahu RK, Hariyadi DM. Prospective use of amniotic mesenchymal stem cell metabolite products for tissue regeneration. *J Biol Eng.* 2023 Feb 9;17(1):11. doi: 10.1186/s13036-023-00331-1. PMID: 36759827.
133. Moghimi V, Rahvarian J, Esmaeilzadeh Z, Mohammad-Pour N, Babaki D, Sadeghifar F, Esfehiani RJ, Bidkhorri HR, Roshan NM, Momeni-Moghaddam M, Naderi-Meshkin H. Adipose-derived human mesenchymal stem cells seeded on denuded or stromal sides of the amniotic membrane improve

- angiogenesis and collagen remodeling and accelerate healing of the full-thickness wound. *Acta Histochem.* 2023 Apr;125(3):152027. doi: 10.1016/j.acthis.2023.152027. Epub 2023 Apr 14. PMID: 37062121.
134. Mukai K., Tsai M., Saito H., Gall S. J. [et al.]. Mast cells as sources of cytokines, chemokines, and growth factors / - Text : visual // *Immunological Reviews.* 2018. Vol. 282. 121-150.
135. Munoz N, Posthauer ME. Nutrition strategies for pressure injury management: Implementing the 2019 International Clinical Practice Guideline. *Nutrition in Clinical Practice.* 2022 Jun;37(3):567-82.
136. Ng F., Chiong F. J., Buchanan R., Burrell L. M. LM.A rare case of Behçet disease with generalized myositis, cardiomyositis and necrotizing fasciitis. *BMJ Case Reports.* 2016. 1. 2119-23. - DOI 10. 1136/bcr-2015- 211983.
137. Okita AL, Steiner D, Berbert Ferreira S, Müller Ramos P, Ferreira W, Silveira R, Mussi ML, Vaidergorn RE, Berbert Ferreira R. Treatment of Male-Pattern Alopecia with Platelet-Rich Plasma. *Skin Appendage Disord.* 2020 Mar;6(2):97-101. doi: 10.1159/000504346. Epub 2019 Dec 18.PMID: 32258052.
138. Omar NN, El-Tawdi AH, Tash RF, Shoukry Y, Mahmoud NA, El Bakly W. Tumor potential in rat wounds after short- and long-term administration of platelet-rich plasma. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2017 Oct-Dec;31(4):889-899.PMID: 29254291.
139. Oropallo A, Rao AS, Del Pin C, Ranire-Maguire M, Mathew A. An objective comparative study of non-surgical cleansing techniques and cleanser types in bacterial burden management. *Int Wound J.* 2024 Feb;21(2):e14730. doi: 10.1111/iwj.14730.
140. Otero G, Agorio C, Sujanov A, Echarte L, Tchekmedyian A, Montelongo M, Menyous A, Rodriguez A, Diaz L, Rodriguez I, Touriño C. Autologous bone marrow-derived cells for venous leg ulcers treatment: a pilot study. *Cytotherapy.* 2019 Feb;21(2):189-199. doi: 10.1016/j.jcyt.2019.01.002. Epub 2019 Jan 28.PMID: 30700393 Clinical Trial.

141. Owens EP, Vesey DA, Kassianos AJ, Healy H, Hoy WE, Gobe GC. Biomarkers and the role of mast cells as facilitators of inflammation and fibrosis in chronic kidney disease. *Transl Androl Urol.* 2019 May;8(Suppl 2):S175-S183. doi: 10.21037/tau.2018.11.03.PMID: 31236335.
142. Paolino G, Moliterni E, Didona D, Cardone M, Lopez T, Garelli V, Richetta AG, Bottoni U, Cantisani C, Rossi A, Calvieri S. Serum tryptase levels in melanoma patients: case-control study and review of the literature. *Ital Dermatol Venereol.* 2019 Feb;154(1):18-25. doi: 10.23736/S0392-0488.17.05524-9. Epub 2017 Jan 12.PMID: 28079340.
143. Patel K, Bakshi N, Freehill MT, Awan TM. Whole-body cryotherapy in sports medicine. *Curr Sports Med Rep.* 2019; 18(4): 136–40.
144. Pogrebnyak A, Sukhodub LF, Sukhodub LB, Bondar O, Kumeda M, Shaimardanova B, Turlybekuly A. Composite material with nanoscale architecture based on bioapatite, sodium alginate and ZnO microparticles. *Ceramics International.* 2019; 45(6): 7504-14. DOI: 10.1016/j.ceramint.2019.01.043].
145. Posypenko OB, Stelmakh GO, Bakaluk TG. [Effectiveness of local cryotherapy in treatment of musculoskeletal disorders]. *Nursing.* 2020.(3): 35–7.
146. Protzman NM, Mao Y, Long D, Sivalenka R, Gosiewska A, Hariri RJ, Brigido SA. Placental-Derived Biomaterials and Their Application to Wound Healing: A Review. *Bioengineering (Basel).* 2023 Jul 12;10(7):829. doi: 10.3390/bioengineering10070829.PMID: 37508856.
147. Psathas E, Egger B, Mayer D. Dehydrated human amnion/chorion membrane allograft with spongy layer to significantly improve the outcome of chronic non-healing wounds. *Int Wound J.* 2024 Jan;21(1):e14356. doi: 10.1111/iwj.14356. Epub 2023 Sep 3.PMID: 37661177.
148. Rosen RD, Manna B. Wound Dehiscence. In: *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; (Updated 2021 May 9).* available at <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551712/>.

149. Roterman-Konieczna I. Statystyka na recepte. Wprowadzenie do statystyki medycznej Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellonskiego Krakow, 2010. 262 s.
150. Roterman-Konieczna I. Elementy informatyki medycznej. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellonskiego. Krakow, 2011. 202 s.
151. Schmiedova I, Ozanova Z, Stastna E, Kiselakova L, Lipovy B, Forostyak S. Case Report: Freeze-Dried Human Amniotic Membrane Allograft for the Treatment of Chronic Wounds: Results of a Multicentre Observational Study. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021 Jun 24;9:649446. doi: 10.3389/fbioe.2021.649446. eCollection 2021. PMID: 34249879.
152. Schmiedova I, Dembickaja A, Kiselakova L, Nowakova B, Slama P. Using of Amniotic Membrane Derivatives for the Treatment of Chronic Wounds. *Membranes (Basel).* 2021 Nov 29;11(12):941. doi: 10.3390/membranes11120941. PMID: 34940442.
153. Schreier C, Rothmiller S, Scherer MA, Rummel C, Steinritz D, Thiermann H, Schmidt A. Mobilization of human mesenchymal stem cells through different cytokines and growth factors after their immobilization by sulfur mustard. *Toxicol Lett.* 2018 Sep 1; 293:105-111. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.02.011. Epub 2018 Feb 6. PMID: 29426001.
154. Shi C, Dumville JC, Cullum N, Connaughton E, Norman G. Compression bandages or stockings versus no compression for treating venous leg ulcers. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021 Jul 26;7(7):CD013397. doi: 10.1002/14651858.CD013397.pub2. PMID: 34308565.
155. Sławiński P, Radkowski M, Lewandowicz A, Targowski T. Mixed-etiology leg ulcers in a patient on long-term glucocorticoid therapy. *Reumatologia.* 2019;57(3):173-177. doi: 10.5114/reum.2019.86429. Epub 2019 Jun 28. PMID: 31462834.
156. Suttle, M. M., Harvima I. T. Mast cell chymase in experimentally induced psoriasis. *J. Dermatol.* 2016. Vol. 43(6).693–696.

157. Siqueira AF, Vieira A, Ramos GV, et al. Multiple cryotherapy applications attenuate oxidative stress following skeletal muscle injury. *Redox Rep.* 2017 Nov;22(6):323–9. doi: 10.1080/13510002.2016.1239880. PMID: 27750503.
158. Skrzep-Poloczek B, Romuk E, Wiñnowiska B, et al. Effect of Whole-Body Cryotherapy on Antioxidant Systems in Experimental Rat Model. *Oxid Med Cell Longev.* [Internet]. [cited 2021 February 12]; 2017;2017:8158702. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2017/8158702/> doi: 10.1155/2017/8158702. PMID: 28740572.
159. Sugasawa T, Tome Y, Takeuchi Y, et al. Influence of Intermittent Cold Stimulations on CREB and Its Targeting Genes in Muscle: Investigations into Molecular Mechanisms of Local Cryotherapy. *Int J Mol Sci.* [Internet]. 2020 Jun 8 [cited 2021 February 12]; 21(13):4588. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/13/4588> doi: 10.3390/ijms21134588. PMID: 32605164/.
160. Tettelbach W, Cazzell S, Reyzelman AM, Sigal F, Caporusso JM, Agnew PS. A confirmatory study on the efficacy of dehydrated human amnion/chorion membrane dHACM allograft in the management of diabetic foot ulcers: A prospective, multicentre, randomised, controlled study of 110 patients from 14 wound clinics. *Int Wound J.* 2019 Feb;16(1):19-29. doi: 10.1111/iwj.12976. Epub 2018 Aug 22. PMID: 30136445.
161. Tettelbach W, Cazzell S, Sigal F, et al. A multicentre prospective randomised controlled comparative parallel study of dehydrated human umbilical cord (EpiCord) allograft for the treatment of diabetic foot ulcers. *Int Wound J.* 2019; 16(1): 122–30. doi: 10.1111/iwj.13001. PMID: 30246926.
162. Tiarasanti F, Sufiawati I, Amalia E, Sari KI, Zubaedah C, Takarini V. The Effects of Potato (*Solanum tuberosum* L. vs. Granola; Solanaceae) Peel Extract Gel on Gingival Wound Healing in Wistar Rats. *J Exp Pharmacol.* 2024 Jan 26;16:25-35. doi: 10.2147/JEP.S443355. eCollection 2024.

163. Valdes PJ, Dorosh J, Lin JC, Diaz MA. Vein Graft Stenosis. 2020 Oct 19. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. PMID: 29763122.
164. Vehe RK, Riskalla MM. Collagen Vascular Diseases: SLE, Dermatomyositis, Scleroderma and MCTD. *J. Pediatr Rev.* 2018. 39(10). 501–515.
165. Vicenti G, Bizzoca D, Caruso I, Nappi VS, Giancaspro G, Carrozzo M, Moretti B.J. New insights into the treatment of non-healing diabetic foot ulcers. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018 Nov-Dec;32(6 Suppl. 1):15-21. PMID: 30644276.
166. Vieira Ramos G, Pinheiro CM, Messa SP, et al. Cryotherapy Reduces Inflammatory Response Without Altering Muscle Regeneration Process and Extracellular Matrix Remodeling of Rat Muscle. *Sci Rep.* [Internet]. Jan 4 [cited 2021 February 12]; 6:18525. Available from: <https://www.nature.com/articles/srep18525> doi: 10.1038/srep18525. PMID: 26725948.
167. Walls AF, Amalinei C. Detection of Mast Cells and Basophils by Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol.* 2020; 2163:263-280. doi: 10.1007/978-1-0716-0696-4\_22. PMID: 32766983.
168. Wang TY, Chen YC, Wang W, Jiang D, Liu L, Yang H, Wang AP. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi.* [Mechanism of maggot debridement therapy in promoting wound angiogenesis in patients with diabetic foot ulcer]. 2020 Nov 20;36(11):1040-1049. doi: 10.3760/cma.j.cn501120-20191022-00409. PMID: 33238687.
169. Wu M, Sun M, Dai H, Xu J, Guo R, Wang Y, Xue C. Negative pressure wound therapy: An effective adjunctive treatment to assist flap survival and wound closure. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2018; 48-68.
170. Wu H, Ni R, Shi Y, Hu Y, Shen Z, Pang Q, Zhu Y. The Promising Hydrogel Candidates for Preclinically Treating Diabetic Foot Ulcer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2023

Jan;12(1):28-37. doi: 10.1089/wound.2021.0162. Epub 2022 Apr 11. PMID: 35229628.

171. Vuylsteke M. E., Thomis S., Guillaume G., Modliszewski M. L. [et al.]. Epidemiological Study on Chronic Venous Disease in Belgium and Luxembourg: Prevalence, Risk Factors, and Symptomatology. *Europ. J. of Vascular and Endovascular Surgery*. 2015. Vol. 49, 4. 432-439. DOI 10.1016/j.ejvs.2014.12.031.
172. Zembron-Lacny A, Morawin B, Wawrzyniak-Gramacka E, et al. Multiple cryotherapy attenuates oxi-inflammatory response following skeletal muscle injury. *Int J Environ Res Public Health*. [Internet]. 2020 Oct 27 [cited 2021 February 12]; 17(21):7855. Available from: <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/21/7855> doi: 10.3390/ijerph17217855. PMID: 33120891.
173. Zouboulis CC, Wild T, Zouboulis VA, Har-Shai Y. Intralesional cryosurgery of keloids: required treatment hold time. *Br J Dermatol*. 2021; 184(1):173–5. doi: 10.1111/bjd.19427. PMID: 33216367.

*Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. **Гольцев К. А.**, Криворучко І. А., Гольцев А., Пархоменко К. Ю., Хорошун Е. (2021). Use of Modern Cryomethods in Combined Surgical Treatment of Patients with Purulent Chronic Wounds. *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. 31. 109-115. 10.15407/cryo31.02.109.
2. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Іванова Ю.В., Чеверда В.М. Лікування гнійних ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються, за допомогою VAC-терапії. *ХХІІІ*, 2021, № 3(108), стр. 38-42, DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.2.2021.08>
3. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Гольцев А.М., Пархоменко К.Ю., Чеверда В.М. Вплив тучних клітин на патогенетичні ланки механізмів запалення у хворих із гнійними ранами, що тривало не загоюються. *Харківська хірургічна школа* 2020. 4(103) 43-47. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.4.2020.08>
4. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Гольцев А.М., Сивожелезов А.В., Сикал Н.О., Тонкоглас О.А. Сучасні підходи до комплексного хірургічного лікування гнійних ран, що тривало не загоюються. *ХХІІІ*, 2020.5-6(104-105) 61-66. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.5-6.2020.11>
5. **Гольцев К.А.** Використання вакуумної терапії в комплексному хірургічному лікуванні ран нижніх кінцівок, що тривало не загоюються. *Харківська хірургічна школа*. 2022. 6(117). 35-49. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.6.2022.08>.
6. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Чеверда В.М. Особливості патогенезу гнійних ран нижніх кінцівок, що довго не гояться (огляд літератури). *Харківська хірургічна школа*. 2023. 3(120). 81-89. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.3.2023.15>.

7. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Чеверда В.М. Особливості патогенезу гнійних ран нижніх кінцівок, що довго не гояться 2023.1–2(118–119). 157-165. DOI:<https://doi.org/10.37699/2308-7005.1-2.2023.32>
8. **Гольцев К.А.**, Криворучко І.А., Гольцев А.М., Іванова Ю.В., Чеверда В.М., Мясоєдов К.В. Використання сучасних кріометодів в комплексному хірургічному лікуванні пацієнтів із гнійними ранами, що тривало не загоюються. Problems of Cryobiology & Cryomedicine / Problemy Kriobiologii i Kriomedicyny, 2021, Vol 31, Issue 2, p109 DOI:10.15407/cryo31/102/09

***Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:***

9. Kryvoruchko IA, **Goltsev KA**, Ivanova Yu V, Cheverda VM. The Use of Negative Pressure Wound Treatment of Chronic Non-Healing Wounds. Acta Scientific Medical Sciences (ISSN: 2582-0931). Vol.5 Issue 3 March 2021. ISSN: 2582-0931
10. **Goltsev K.A.**, Zamiatin P.N. Remote thermometric study of changed skin coats in patients with purulently non-healing wounds. Deutscher Wissenschaftsherold. German Science Herald, 2021. 1. 67-73. DOI:10.19221/202112
11. **Goltsev K.A.**, Krivoruchko I.A., Parkhomenko K. Yu. Modern approaches to comprehensive surgical treatment of patients with long-to-heal wounds. Abstracts of II International Scientific and Practical Conference «Science and practical technologies». January 26–29, 2021. Luxembourg. 236-240

***Наукові праці, які додатково відображають результати дисертації:***

12. **Гольцев АМ**, Тараннік ГК, Гриша І Г, Сокіл Л В, Бондарович МО, Останков МВ, Луценко ОД, Гольцев КА, Останкова ЛВ. Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини Патент на корисну модель UA 113006, МПК А01N 1/02, Заявл. 06.06.2016, №201606081, Опубл. 10.01.2017, бюл. №1.

13. **Гольцев А.М.**, Мосійчук В.В., Гольцев К.А., Тараннік Г.К., Сокіл Л.В., Останков М.В., Бондарович М.О., Гриша І.Г., Чернишенко Л.Г. Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини. Патент України на корисну модель № 117780, МПК А01N 1/02, Заявл. 04.01.2017, № u 2017 00170, Публ. 10.07.2017, Бюл. № 13.

### Апробація результатів дисертації

Апробація дисертації проведена на спільному засіданні співробітників кафедри хірургії №2 ХНМУ і Вченої Ради ДУ «ІЗНХ ім. В.Т. Зайцева НАМН України». Основні положення дисертації повідомлені та обговорені на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» «ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України» (Харьков, 2019), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» «ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України» (Харьков, 2020), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» «ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України» (Харьков, 2021), II International Scientific and Practical Conference «Science and practical technologieS» (Luxembourg, 2021), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» «ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України» (Харьков, 2022 on line), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» «ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України» (Харьков, 2023 on line), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання невідкладної хірургії» «ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України» (Харьков, 2024 on line), а також на засіданнях членів Харківського осередку ГО «Асоціація хірургів України».

## Дозвільна документація щодо застосування медичного імунобіологічного препарату КРІОЦЕЛЛ-КРІОКОРД

ДОГОВІР № 24/62-211/2

про науково-практичне співробітництво

між Державним підприємством «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України» і Харківським національним медичним університетом

м. Харків

« 14 » 04 2021 р.

Державне підприємство «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України» (Сторона 1), в особі директора, академіка НАН України Гольцева Анатолія Миколайовича, що діє на підставі Статуту з одного боку, та Харківський національний медичний університет (Сторона 2), в особі ректора, доктора медичних наук, професора Калустника Валерія Андрійовича, що діє на підставі Статуту з другого боку уклали цей договір про наступне:

### 1. Мета і предмет договору

1.1. Метою цього Договору є розвиток і розширення науково-практичного співробітництва між Державним підприємством «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України» та кафедрою хірургії №2 Харківського національного медичного університету, для проведення наукового дослідження за темою «Комплексне лікування ран, що тривало не загоюються з використанням компонентів кордової крові» і втілення наукових розробок у цьому напрямку в клінічну практику.

1.2. Предметом цього Договору є організаційне, інформаційне, наукове та методологічне забезпечення науково-практичної співпраці Сторін, що ґрунтується на принципах партнерства, взаємовигоди та спільності інтересів в галузі науки, для ефективного використання інтелектуального та матеріального потенціалу Сторін, для забезпечення їх стабільного розвитку, підвищення якості наукової та науково-технічної продукції та одержання нових знань у галузі фундаментальних досліджень медицини.

### 2. Права та обов'язки сторін

Сторони зобов'язуються:

- проводити регулярні зустрічі з метою формування планів наукової роботи, обговорення результатів проведених досліджень;
- самостійно визначати порядок, етапи та інші умови сумісної діяльності;
- надавати наукові та методичні консультації з обраного напрямку діяльності;
- систематично інформувати іншу Сторону про результати наукової роботи;
- надавати можливість використання медичної техніки, обладнання та апаратури згідно з затвердженням графіком роботи узгодженим обома Сторонами;

- розробляти та виконувати спільні наукові теми, готувати спільні наукові статті, тези;
- проводити спільні семінари, конференції, інші заходи інформаційного чи наукового характеру, інформувати сторони про проведення міжнародних, національних конгресів, з'їздів, конференцій, а також брати участь в таких заходах, що проводяться Сторонами;
- впроваджувати сумісні результати роботи в учбовий і науковий процес;
- сприяти посиленню ролі сучасних наукових знань за актуальними напрямками лікування інфекційних та інших форм захворювань;
- забезпечити можливість проведення обстеження пацієнтів, в установленому чинним законодавством порядку;
- надавати консультації з узгодженої тематики для обговорення питань наукової та практичної діяльності;
- забезпечити можливість та відвести час для обміну наявною інформацією з аспектів взаємних інтересів;
- впроваджувати заходи щодо контролю за належним виконанням плану співпраці;
- дотримуватись правил та порядку використання результатів сумісних наукових досліджень.

#### **2.2. Сторона 1 зобов'язується:**

- надати Стороні 2 кріоконсервованій препарат кордової крові людини «Кріоцел – Гемокордо», в установленому чинним законодавством порядку;
- проводити дослідження структурно-функціонального стану лімфоцитів у зразках крові пацієнтів методом проточної цитофлуориметрії наданих Стороною 2, в установленому чинним законодавством порядку;
- проводити дослідження ростових факторів та колагену в зразках крові пацієнтів наданих Стороною 2, в установленому чинним законодавством порядку;

- сумісно обговорювати результати проведених досліджень.

#### **2.3. Сторона 2 зобов'язується:**

- надавати в установленому чинним законодавством порядку Стороні 1 зразки крові пацієнтів для проведення наукових досліджень;
- у разі необхідності забезпечувати Сторону 1 необхідними матеріалами та реактивами для проведення передбачених Договором досліджень;
- надавати наукову та інформаційно-методичну допомогу медичного спрямування під час проведення досліджень;
- надавати консультативну допомогу в ході виконання досліджень;
- систематизувати та аналізувати отриману, в результаті проведення досліджень, інформацію та надавати її Стороні 1;
- сумісно з Стороною 1 сприяти розробці нових технологій та впроваджувати отримані результати в медичну практику.

*Handwritten signature*

### **3. Права та порядок використання результатів сумісних наукових досліджень**

- 3.1. Здійснювати обмін науково-технічною інформацією щодо сучасного стану

досліджень, які запроваджуються за договором, домовлятися про можливість публікації результатів спільних наукових робіт (у вигляді звітів, статей, та інш.); обмінюватися інформацією з літературних джерел за відповідною тематикою;

3.2. Питання використання результатів сумісних наукових досліджень, розробок та іншої інформації, отриманої при співробітництві Сторін, питання патентування, захисту авторських прав вирішується Сторонами за погодженням на підставі діючого законодавства.

3.3. Отримані в процесі спільного виконання робіт результати не можуть передаватися третім особам без письмового погодження обох сторін цього договору.

#### **4. Порядок внесення до договору змін, доповнення, розірвання та строк дії договору**

4.1. Зміни та доповнення до цього договору вносяться за погодженням Сторін та оформлюються письмово, як невід'ємна частина договору.

4.2. Договір може бути розірвано достроково:

- за згодою сторін;
- на підставах встановлених діючим законодавством;
- за рішенням суду;
- у разі ліквідації однієї із сторін, якщо не визначена юридична особа, що є правонаступником ліквідованої сторони.

4.3. Договір набирає силу з моменту підписання Сторонами і діє до 31 грудня 2024 року.

#### **5. Відповідальність сторін**

5.1. У разі невиконання або неналежного виконання умов даного Договору Сторони несуть відповідальність згідно з нормами чинного законодавства України.

5.2. Відповідальними особами за виконання Договору призначаються:

- від Сторони 1 директор, академік НАН України Гольцев А. М.
- від Сторони 2 завідувач кафедри хірургії №2 професор Криворучко І.А.

#### **6. Інші умови**

6.1. Цей договір не містить будь-яких фінансових зобов'язань, матеріально-технічної відповідальності та зобов'язань між Сторонами.

6.2. Всі суперечні питання, які виникли в результаті реалізації умов даного Договору, вирішуються шляхом двосторонніх переговорів, а у разі неможливості прийти до згоди, вирішуються в порядку, що передбачений чинним законодавством України.

6.3. Цей договір складено в трьох примірниках, що мають однакову юридичну силу: два примірника залишаються у Сторони 2, а один – у Сторони 1

6.4. Зміни в цей договір можуть бути внесені за взаємною згодою Сторін,

статус

що повинні оформлюватися додатковою угодою до цього Договору. Всі доповнення і зміни до цього договору є невід'ємною його частиною.

## 7. Юридичні адреси Сторін:

### Сторона 1:


**ДП «Міжвідомчий науковий центр  
кріобіології і кріомедицини НАН,  
АМН та МОЗ України»**

Адреса: 61016, м. Харків,  
вул. Переяславська, 23  
Тел.: (057) 373-41-43,  
факс: (057) 373-30-80  
E-mail: [cyzo@online.kharkov.ua](mailto:cyzo@online.kharkov.ua)


Директор ДП «Міжвідомчого  
наукового центру кріобіології і  
кріомедицини НАН, АМН та МОЗ  
України, академік НАН України,  
д. мед. н., професор

 А.М. Гольцев

Головний науковий співробітник,  
відповідальний за проведення науково-  
дослідної роботи ДП «Міжвідомчий  
науковий центр кріобіології і  
кріомедицини НАН, АМН та МОЗ  
України», д. б. н., професор

 О.К. Гулевський

Старший науковий співробітник  
науково-дослідної групи ДП  
«Міжвідомчий науковий центр  
кріобіології і кріомедицини НАН,  
АМН та МОЗ України»,  
к.б.н., с.н.с.

 О.В. Фалько

### Сторона 2:

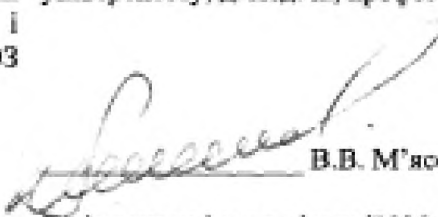
**Харківський національний медичний  
університет**

Адреса: 61022, м. Харків,  
пр. Науки, 4  
Tel.: +38 (057) 705 07 11  
Fax: +38 (057) 700 41 32  
E-mail: [meduniver@kntmu.kharkov.ua](mailto:meduniver@kntmu.kharkov.ua)  
Website: [www.kntmu.kharkov.ua](http://www.kntmu.kharkov.ua)

Ректор Харківського національного  
медичного університету, д. мед. н.,  
професор

  
В.А. Капустник

Проректор з наукової роботи  
Харківського національного медичного  
університету, д. мед. н., професор

 В.В. М'ясодов

Завідувач кафедри хірургії №2  
Харківського національного медичного  
університету д. мед. н., професор

 І.А. Криворучко

*В.А. Капустник*

|   |  |   |
|---|--|---|
| <b>Державне підприємство<br/>«Міжвідомчий науковий<br/>центр кріобіології і<br/>кріомедицини НАН, АМН<br/>та МОЗ України»</b> | <b>Сертифікат про державну реєстрацію №604/11-300200000 від 15.08.2011 р. до 15.08.2016 р.</b>   |   |
|   | Країна виробник: Україна<br>61015, Харківська обл., м. Харків, вул.<br>Переяславська, будинок 23<br>Тел. (057) 373-41-43; факс (057) 373-59-52<br>e-mail: cryo@online.kharkov.ua.<br>www.users.itl.net.ua/ipcc | Ліцензія на виробництво лікарських засобів<br><b>Серія АВ № 598013 з 21.02.2012 року</b><br>Сертифікат на систему управління якістю за<br>№ UA 2.053.05317-10 |

## СЕРТИФІКАТ СЕРІЇ № 12

|   |  |
|---|--|
| 1. Назва продукції  | КРІОЦЕЛЛІ-КРІОЕКСТРАКТ ПЛАЦЕНТИ  |
| 2. Сила дії   | 500 МО/мл альфа-фетопротеїну   |
| 3. Лікарська форма  | суспензія заморожена   |
| 4. Розмір та тип пакування  | по 1,8 мл у стерильних пластикових контейнерах   |
| 5. Номер партії/серії   | 1918   |
| 6. Дата закінчення терміну придатності/повторного контролю/використання | до 09.2021 року  |
| 7. Назва та адреса виробника  | Державне підприємство «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України», Україна, 61015, Харківська обл., м. Харків, вул. Переяславська, будинок 23               |
| 8. Номір ліцензії на виробництво для дільниці                           | Ліцензія на виробництво лікарських засобів Серія АВ № 598013 з 21.02.2012 року<br>Сертифікат на систему управління якістю за № UA 2.053.05317-10   |
| 9. Коментарі/примітки   | Зберігання та транспортування у рідкому азоті підвищеної чистоти при температурі мінус 196°C. Термін зберігання розмороженого препарату не повинен перевищувати 2 години при температурі (4±2)°C |
| 10. Номер(и) EudraCT та номер протоколу спонсора                        | Відсутні   |

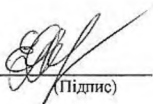
### 11. Додаткова інформація:

| № з/п | Показники якості         | Вимоги АНД<br>(Наказ МОЗ України № 515 від 15.08.2011 р., СДР №604/11-300200000 від 15.08.2011 р.)                         |  |
|-------|--------------------------|--|--|
|       |                          | 3  | 4  |
| 1.    | Опис                     | В замороженому стані – цільна затверділа маса від рожевого до червоного кольору  | Рожево-червоний колір  |
| 2.    | Автентичність            | Препарат повинен містити альфа-фетопротеїн, не менше ніж 500 МО/мл<br>Препарат повинен містити білок, не менше ніж 7 мг/мл | 889,1 МО/мл<br>16,74 мг/мл   |
| 3.    | Стерильність             | Препарат повинен бути стерильним   | Стерильний   |
| 4.    | Специфічна нешкідливість | Препарат повинен витримувати контроль на відсутність збудників:  | Відсутні<br>Відсутні<br>Відсутні<br>Відсутні<br>Відсутні<br>Відсутні<br>Відсутні<br>Відсутні<br>Відсутні |
| 5.    | Специфічна активність    | Загальний вміст білку, 12±5 мг/мл  | 16,74 мг/мл  |

**Сертифікат серії на Кріоцелл-кріоекстракт плаценти, суспензія заморожена по 1,8 мл у стерильних пластикових контейнерах, с.2**

| 1  | 2                 | 3   | 4  |
|----|-------------------|---|--|
| 6. | <b>Пакування</b>  | По 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 1,8 мл, 4, 5 мл або 10,0 мл у стерильних пластикових кріопробірках з поліпропілену або з полістиролу, призначених для зберігання при низьких температурах. Контейнер вкладають в плівку з поліетилену за ГОСТ 10354-82 разом з етикеткою з паперу етикеткового за ГОСТ 7625-86 або з паперу для письма за ГОСТ 18510-87 та герметично запаюють. По одному або декілька контейнерів разом з інструкцією про застосування та етикеткою вкладають у пакет з плівки полівінілхлоридної за ТУУ 64-23518596-001-99 або плівки з поліетилену за ГОСТ 10354-82   | Відповідає   |
| 7. | <b>Маркування</b> | На первинну упаковку (етикетку) українською мовою нанесено: назву препарату (українською та/або російською, та/або англійською мовою), об'єм препарату, номер серії, дату виготовлення, термін придатності.<br>На вторинну упаковку (етикетка) українською мовою нанесено: назву країни «Україна», назва підприємства-виробника, його адресу, назву препарату (українською та/або російською, та/або англійською мовою), форма випуску, об'єм препарату, кількість одиниць контейнерів (за необхідністю), спосіб застосування, попереджувальні написи «Стерильне», «Застосовувати за призначенням лікаря», номер серії, дату виготовлення, термін придатності, умови зберігання, номер сертифікату про державну реєстрацію, штрих-код | Графічне оформлення первинної упаковки (етикетки) відповідає затвердженому зразку<br><br>Графічне оформлення вторинної упаковки (етикетки) відповідає затвердженому зразку |

Керівник ВКЯ

  
(Підпис)

Ямпольська К.С.

(Прізвище)

**Заява про сертифікацію:** Цим я засвідчую, що наведена вище інформація є достовірною та точною.

Цю серію продукції № 1918 було вироблено (включаючи пакування/маркування) та проведено контроль її якості на вищезазначеній дільниці у повній відповідності з вимогами чинних Настанов з якості та Ліцензійних умов провадження господарської діяльності з виробництва лікарських засобів, оптової, роздрібною торгівлі лікарськими засобами, а також відповідно вимогам реєстраційного досьє. Протоколи виробництва, пакування та контролю серії було переглянуто та встановлено відповідність належної виробничої практики.

**Цим я засвідчую, що ця серія відповідає вимогам ст. 13.3 директиви 2001/20/ЕС**

**ДОЗВОЛЕНО ДО РЕАЛІЗАЦІЇ**

Уповноважена особа

  
(Підпис)

Заболотна Е.В.

(Прізвище)

Дата підписання

«17» липня 2016р.



Серія АВ

**ЛІЦЕНЗІЯ**

№ 598013

**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ  
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ****Виробництво лікарських засобів****Державне підприємство "Міжвідомчий науковий центр  
кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України"**

Ідентифікаційний код 25183192

Місцезнаходження юридичної особи

**Харківська обл., місто Харків, вулиця Переяславська, будинок 23**Дата прийняття  
та номер рішення про видачу ліцензії 21 лютого 2012 р. №114

Строк дії ліцензії з 21.02.2012 р.

Голова О.С. Соловйов

Дата видачі ліцензії 06 березня 2012 р.

М.П.

Державна служба України з лікарських засобів

Місце провадження діяльності

**Державне підприємство Харківська обл., місто Харків, вулиця  
"Міжвідомчий науковий Переяславська, будинок 23  
центр кріобіології і  
кріомедицини НАН, АМН  
та МОЗ України"**

у формі: суспензій у стерильних пластикових контейнерах

Дата прийняття та номер рішення  
про видачу кошти ліцензії 21 лютого 2012 р. №114

Голова О.С. Соловйов

М.П.





**УКРАЇНА**  
**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я**  
**СЕРТИФІКАТ ПРО ДЕРЖАВНУ РЕЄСТРАЦІЮ**  
**МЕДИЧНОГО ІМУНОБІОЛОГІЧНОГО ПРЕПАРАТУ**

№ 604/11-300200000

від 15 серпня 2011 р.

1. Торговельна назва **КРІОЦЕЛЛ / CRYOCELL**
2. Форма випуску, доза-упаковка **суспензія заморожена по 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 1,8 мл, 4,5 мл або 10,0 мл у стерильних пластикових контейнерах**
3. Міжнародна непатентована назва
4. Назва та місце знаходження виробника (вказати місцезнаходження основного та альтернативного виробництва) **ДП «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України», 61015, м. Харків, вул. Переяславська, 23, Україна**
5. Назва та місце знаходження заявника **ДП «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України», 61015, м. Харків, вул. Переяславська, 23, Україна**
6. Медичне призначення **Лікувально-профілактичний імуномодулюючий препарат для застосування в комплексі підтримуючої терапії при порушенні кровотворення, анеміях, імунопатологіях, судинних та ендокринних патологіях, нейродегенеративних захворюваннях, фетоплацентарній недостатності, запальних захворюваннях, патологіях печінки, в геріатрії**

Сертифікат підтверджує, що медичний біологічний препарат відповідає вимогам державних стандартів і дозволяє до медичного застосування в Україні до 15 серпня 2016 р.

В.о. Заступника директора Департаменту контролю якості медичних препаратів, регуляторної політики та санітарно-епідемічного благополуччя –  
 начальника Управління розвитку фармацевтичного сектору галузі охорони здоров'я  
 М.П.

Л.В. Коношевич



СР

№002332

Додаток до Сертифікату про Державну реєстрацію  
медичного імунобіологічного препарату  
№ 604/06-300200000 від 04.07.2006

**Назва препарату:** Кріоцелл (CryoCell) (6 найменувань)

1. Кріоцелл-гемоклітини
2. Кріоцелл-гемонейронал
3. Кріоцелл-кріоцеребрум
4. Кріоцелл-кріокорд
5. Кріоцелл-кріоекстракт плаценти
6. Кріоцелл-гемокорд

Голова Державної служби  
лікарських засобів і виробів  
медичного призначення



Ю.Б.Константинов

М.П.

ЗАТВЕРДЖЕНО  
Наказом Міністерства охорони  
здоров'я України

від 15.08.2011 № 515

Сертифікат про державну реєстрацію

№ 604/11-300200000 від 15.08.2011р.

## ІНСТРУКЦІЯ

до застосування медичного імунобіологічного препарату  
**КРІОЦЕЛЛ / CRYOCELL**

### Загальна характеристика

**Основні властивості лікарської форми:** препарат «Кріоцелл» являє собою заморожену до температури мінус 196С монодозовану, рідку суспензію від жовтуватого до рожево – червоного кольору, що містить біологічно - активні сполуки білкового, пептидного походження та клітин людини. Препарат протестовано мікробіологічними, імунохімічними і молекулярно-генетичними дослідженнями для підтвердження відсутності збудників інфекційних хвороб – сифілісу, ВІЛ-інфекції, гепатитів В та С, краснухи, герпесу 1 та 2 типів, цитомегаловірусної інфекції, токсоплазмозу, мікоплазмозу. Препарат стерильний і вільний від збудників означених інфекційних хвороб.

Препарат підрозділяють на: Кріоцелл-гемоклітини, Кріоцелл-кріокорд, Кріоцелл-гемокорд, Кріоцелл-кріоекстракт плаценти, Кріоцелл- кріоцеребрум, Кріоцелл-гемонейронал.

### Склад

Біологічно – активні речовини білкової та пептидної природи: альфа-фетопротеїн, гемопоетини, нейрогенні фактори, монокіни, інтерлейкіни, інтерферони, фактори росту, комплекс імуностимуляторів та імуномодуляторів, соматотропний гормон, естрогени, стероїдні гормони, мікроелементи, вітаміни, заморожені клітини.

### Форма випуску

Суспензія заморожена по 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 1,8 мл, 4,5 мл або 10,0 мл у стерильних пластикових контейнерах

КОД за АТС. L03 X 12

### Імунологічні і біологічні властивості

Препарат сприяє нормалізації процесів імунітету, гемопоезу, неврологічного і ендокринного статусу. Наявність в складі препарату біологічно активних речовин забезпечує імуномодельючу, гемопоетичну, репаративну та протизапальну дію.

*(Горьшев А.Н.)* *Жук (Шевченко)* *Білець (Чопік В.В.)*

**Побічна дія**

Не спостерігалась.

**Протипоказання**

Індивідуальна непереносимість. Активна форма туберкульозу, гострі запальні процеси, гострі стадії аутоімунних захворювань, наявність злоякісних пухлин, окрім лікування наслідків хіміо- та променевої терапії.

**Особливості застосування**

Препарат «Кріоцелл» перед введенням розморожують. Перед розморожуванням перевіряють відповідність маркування контейнера та даних, що зазначені у супровідних документах. Контейнер з препаратом розморожують струшуючи при температурі  $(37,0 \pm 3,0)^\circ\text{C}$ . При розмороженні необхідно переконатись в цілісності та герметичності контейнера. У випадку порушення цілісності контейнеру препарат не застосовується. Поверхню розморожених контейнерів обробляють спиртом етиловим 70%, після чого при дотриманні правил асептики контейнер з препаратом розкривають.

**Умови зберігання**

У захищеному від світла місці при температурі мінус  $196^\circ\text{C}$  у рідкому азоті.

**Термін придатності**

5 років у замороженому стані при температурі мінус  $196^\circ\text{C}$  у рідкому азоті. Термін зберігання розмороженого препарату до введення пацієнту не повинен перевищувати 2 години при температурі зберігання  $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ .

**Пакування**

Препарат розфасований у стерильні пластикові контейнери 0.5 мл, 1.0 мл, 1.5 мл, 1.8 мл, 4.5 мл або 10.0 мл, які призначені для зберігання при низьких температурах.

**Виробник**

ДП «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини НАН, АМН та МОЗ України», Україна.

Адреса: 61015, м. Харків, вул. Переяславська, 23, тел. (057) 373-41-43; факс (057) 373-59-52, e-mail: [cryo@online.kharkov.ua](mailto:cryo@online.kharkov.ua); <http://www.users.itl.net.ua/ipcc>.

У випадку виникнення побічної дії (ускладнення) після застосування МІБП необхідно направити термінове повідомлення до:

Департаменту контролю якості медичних послуг, регуляторної політики та санітарно-епідемічного благополуччя МОЗ України (01021 м.Київ, вул. Грушевського, 7, тел. (044) 253-61-94);

ДП «Державний експертний центр МОЗ України» (03151, м. Київ, вул. Ушинського, 40, тел.: (044) 393-75-86) та на адресу виробника.

*(Фольксов А.М.)* *Криобіологія* *(Шевченко)* *Біос* *(Чорняк В.В.)*  
3

## КРІОКОРД –ДЛЯ ВСІЄЇ СІМ'І !!!

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказом Державної служби лікарських засобів і виробів медичного призначення Міністерства охорони здоров'я України. Сертифікат про державну реєстрацію № 604/06 300200000 2006 р.

### Інструкція з медичного використання «Кріоцелл-КРІОКОРД»

**Загальна характеристика.** Препарат - це стерильна кріоконсервована сироватка кордової крові людини, яка містить біологічно активні сполуки сироватки кордової крові людини, а саме: комплекс репродуктивних імуномодуляторів, увесь спектр гормонів, притаманний організму новонародженого, ростові та антипроліферативні фактори, гемопоетини та адаптогени, опіодні пептиди – ендорфіни та енкефаліни, ферменти, мікроелементи, вітаміни.

Препарат перевірений на відсутність збудників інфекційних хвороб – сифілісу, ВІЛ, гепатитів В і С, краснухи, герпесу, цитомегаловірусної інфекції, токсоплазмозу, мікоплазмозу. Препарат стерильний і не містить збудників зазначених інфекцій, а також будь-яких домішок і консервантів.

**Форма випуску.** По 1 мл у стерильних кріопробірках.

**Імунологічні і біологічні властивості.** Препарат сприяє нормалізації імунобіологічного та ендокринного статусу, стимулює кровотворення та процеси репарації, має виражену антигіпоксичну та протизапальну дію.

**Показання до застосування.** Кріокорд рекомендується застосовувати при хронічних запальних процесах, поліартритах, порушенні гормонального балансу, цукровому діабеті, порушенні процесів репарації для прискорення загоєння ран, пролежнів, язв, післяопераційних станах, імунологічному дефіциті, передчасному старінні, інфантильності, астенії, депресивних станах, синдромі хронічної втоми, в комплексному лікуванні наркозалежності, при статевих розладах у чоловіків і жінок, патологічному клімаксі, при лікуванні вірусних захворювань, в косметології (комплекс ревіталізації).

**Спосіб застосування і дози.** Внутрішньом'язево по 1 мл щоденно або через день. Курс лікування – 5-10 ін'єкцій. В косметології і при обробці ран – зовнішньо, під- або внутрішньошкірно

**Особливості застосування.** Перед введенням препарат підлягає розморожуванню на повітрі при кімнатній температурі до повного розтавання

**Побічна дія.** Побічна дія препарату та ускладнення не спостерігались.

**Протипоказання.** Вагітність, злоякісні новоутворення.

**Умови зберігання.** Зберігати в замороженому стані при температурі  $-18 - -20^{\circ}\text{C}$  в морозильній камері протягом 6 місяців, у рідкому азоті ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) – до 5 років.

**Виробник.** ДП «МНЦ КБ і КМ НАН, АМН та МОЗ України», м.Харків, вул.Переяславська, 23. Тел./факс: (057)373-59-52. E-mail: [cryo@online.kharkov.ua](mailto:cryo@online.kharkov.ua).

Препарат відпускається за призначенням лікаря.



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113006** (13) **U**

(51) МПК

**A01N 1/02** (2006.01)

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2016 06081**  
 (22) Дата подання заявки: **06.06.2016**  
 (24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.01.2017**  
 (46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.01.2017, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):  
**Гольцев Анатолій Миколайович (UA),**  
**Тараннік Ганна Костянтинівна (UA),**  
**Гриша Ігор Георгійович (UA),**  
**Сокіл Ларіса Віталіївна (UA),**  
**Бондарович Микола Олександрович (UA),**  
**Останков Максим Вадимович (UA),**  
**Луценко Олена Дмитрівна (UA),**  
**Гельцев Кирило Анатолійович (UA),**  
**Останкова Людмила Василівна (UA)**

(73) Власник(и):  
**ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І**  
**КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ**  
**АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,**  
 вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61016  
 (UA)

**(54) СПОСІБ ЛІОФІЛІЗАЦІЇ ЛЕЙКОКОНЦЕНТРАТУ КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ**

**(57) Реферат:**

Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини включає охолодження зразка зі швидкістю 0,5°C/хв. до низької температури і подальше висушування. Охолодження проводять до -28 С, а висушування проводять спочатку при -28. °С протягом 10 годин, а далі при 15 С протягом 2 годин.

**UA 113006 U**



МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117780** (13) **U**  
(51) МПК  
**A01N 1/02** (2006.01)

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

|  |  |
|--|--|
| <p>(21) Номер заявки: <b>u 2017 00170</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>04.01.2017</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.07.2017</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.07.2017, Бюл.№ 13</b></p> | <p>(72) Винахідник(и):<br/><b>Гольцев Анатолій Миколайович (UA),<br/>Мосійчук Василь Володимирович (UA),<br/>Гольцев Кирило Анатолійович (UA),<br/>Тараннік Ганна Костянтинівна (UA),<br/>Сокіл Ларіса Віталіївна (UA),<br/>Останков Максим Вадимович (UA),<br/>Бондарович Микола Олександрович (UA),<br/>Гриша Ігор Георгійович (UA),<br/>Чернишенко Людмила Геннадіївна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и):<br/><b>ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І<br/>КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ<br/>АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,<br/>вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61016<br/>(UA)</b></p> |
|--|--|

**(54) СПОСІБ ЛІОФІЛІЗАЦІЇ ЛЕЙКОКОНЦЕНТРАТУ КОРДОВОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ**

**(57) Реферат:**

Спосіб ліофілізації лейкоконцентрату кордової крові людини передбачає охолодження клітин зі швидкістю 0,5 °С/хв. до -28 °С і подальше висушування, спочатку при -28 °С протягом 10 годин, а далі при 15 °С протягом 2 годин. Охолодження проводять з використанням кріопротектора 10 % гідроксietилкрохмалю.

UA 117780 U

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 11:48:09 18.06.2024

Назва файлу з підписом: Дисертація Гольцева К.А..pdf.p7s

Розмір файлу з підписом: 6.0 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація Гольцева К.А..pdf

Розмір файлу без підпису: 6.0 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Гольцев Кирило Анатолійович

П.І.Б.: Гольцев Кирило Анатолійович

Країна: Україна

РНОКПП: 3009013255

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 11:48:05 18.06.2024

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 382367105294AF97040000004F201F004770E501

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підпис та дані в одному файлі (CAAdES enveloped)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2024.04.15 13:00