

*На правах рукописи*

**Аралова Мария Валерьевна**

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ ТЕХНОЛОГИЯ  
РЕГИОНАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ  
С ТРОФИЧЕСКИМИ ЯЗВАМИ  
НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

14.01.17 – Хирургия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Воронеж – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор **Глухов Александр Анатольевич**

**Официальные оппоненты:**

**Суковатых Борис Семенович** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой общей хирургии

**Тюхтева Надежда Михайловна** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры общей хирургии им. проф. М.И. Гильмана

**Нузова Ольга Борисовна** – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры факультетской хирургии

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.084.04 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026 г. Рязань, ул. Шевченко, д. 34) и на сайте [www.rzgmgu.ru](http://www.rzgmgu.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
кандидат медицинских наук, доцент

О.Д. Песков

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Хроническими трофическими язвами стоп и голеней страдают до 2 % трудоспособного населения индустриально развитых стран/Среди лиц пожилого возраста эта цифра достигает 5 %. В РФ трофическими язвами нижних конечностей страдают около 5 млн человек (Карпышев Д.С., Матвеев С.А., Мазайшвили К.В., 2014; Smith J. et al., 2000; Vuylsteke M.E. et al., 2015). При этом ежегодный прирост в популяции старше 45 лет составляет 3,5 случая на 1000 населения, а после 65 лет частота возрастает в 3 и более раз (Hafner J. et al., 1999; Falanga V., 2001). Затраты на лечение данной категории больных составляют 1–2 % бюджета здравоохранения стран Европы и Северной Америки (Ramelet A.A., 2008).

Количество нозологий, сопровождающихся развитием трофических язв, довольно велико. Хроническая венозная недостаточность нижних конечностей является причиной развития трофических язв нижних конечностей в 80 % случаев, заболевания артерий нижних конечностей – в 8 % случаев (Ларичев А.Б. и др., 2007; Шевченко Ю.Л., Стойко Ю.М., 2013; Карапетян Г.Э. и др. 2014; Rabe E. et al., 2012). Рожистое воспаление, точнее его буллезно-некротическая форма, также нередко является причиной формирования хронических ран нижних конечностей (Храмылин В.Н., 2012). Типичным примером нейротрофической хронической язвы является нейропатическая форма синдрома диабетической стопы (Дедов И.И., Удовиченко О.В., Галстян Г.Р., 2008; Солюянов М.Ю. и др., 2017; Lavery L.A. et al., 2003; Karri V.V.S.R. et al., 2016). Причинами развития трофических язв также могут быть заболевания крови (полицитемия, лейкомия, тромбоцитопения, серповидно-клеточная анемия и др.), системные заболевания соединительной ткани, повторяющаяся травма, липоидный некробиоз, васкулиты, эмболии, болезнь Бюргера, злокачественные опухоли (саркома Капоши, меланома, базально-клеточная карцинома, метастазы), микозы, лекарственные реакции, недостаток витамина В<sub>12</sub> и др. (Григорян А.В., Гостищев В.К., Толстых П.И., 1972; Храмылин В.Н., 2012; Ng F. et al., 2016; Dissemond J. et al., 2017).

Лечение трофических язв является сложной задачей, медицинская и социальная значимость которой связана со значительным ухудшением качества жизни, потерей работоспособности, высоким уровнем инвалидизации больных и огромными затратами на их лечение (Кукольникова Е.Л., Жуков Б.Н., 2011; Иванова А.А. и др., 2017; Phillips T. et al., 1994; Smith J.J. et al., 2003; Andros G. et al., 2006).

Независимо от этиологии трофических язв принципы регионального воздействия во многом схожи. Адекватно подобранное местное лечение играет важную роль (Васильев И.М. и др., 2016; Jhamb S. et al., 2016). В настоящее время появились новые высокотехнологичные перевязочные материалы, использование которых, без сомнения, способствует ускорению заживления трофических язв (Богданец Л.И. и др., 2009; Завацкий В.В., Фомин К.Н., 2015; Afkhamizadeh M. et al., 2018). Однако применение этих средств без предварительной обработки раневой поверхности малоэффективно, так как во всех случаях на дне язвы, в большем или меньшем количестве, имеются фибрин, гнойно-некротические массы, единичные вялые грануляции. Для очищения и подготовки к активному закрытию раневого дефекта путем пересадки кожи или с помощью коллагенсодержащих препаратов используются следующие способы обработки: хирургический, аутолитический, химический и физический.

После очищения раневой поверхности и купирования воспаления с целью стимуляции репаративных процессов в трофических язвах предложено много методов и средств: препараты коллагена (Корейба К.А., Минабутдинов А.Р., 2014), отрицательно заряженные инертные полистирольные микросферы (Othman D., 2012), концентрированная суспензия тромбоцитов (Оболенский В.Н., Ермолова Д.А., 2012; Delgado J.J. et al., 2012; Севрюкова Н.И., Шумков О.А., Шутов Ю.М., 2014; Burnouf T. et al., 2016), применение эволюционно запрограммированного процесса образования и роста кровеносных сосудов (Гавриленко А.В., Воронов Д.А., 2015; Erba P. et al., 2011), методики культивирования кератиноцитов на коллагеновом геле, эпидермальных клеток на культуре фибробластов, создание «живого эквивалента кожи» и комбинированных субстратов и др. (Плеханов А.Н. и др., 2015; Мелешина А.В., Быстрова А.С., 2017; Гилевич И.В., Федоренко Т.В., Коломийцева Е.А., 2017; Coolen N.A. et al., 2007; Tettelbach W. et al., 2018).

Знание широкого спектра методик и их освоение дает возможность специалистам найти индивидуальный подход к каждому пациенту и к любой трофической язве (Адмакин А.Л. и др., 2015). Несмотря на многообразие используемых местных воздействий, не всегда удается достичь желаемого результата. В связи с этим разработка и внедрение в практику новых средств местного лечения трофических язв остается актуальной проблемой. Не оставляет сомнения, что современные данные о процессе заживления раневого дефекта позволяют обеспечить эффективный поиск радикальных и рациональных методов лечения трофических язв.

### **Цель работы**

Улучшение результатов лечения больных с трофическими язвами нижних конечностей различной этиологии путем разработки и внедрения в клиническую практику персонализированной технологии регионального лечения, основанной на особенностях клеточного компонента специфического тканевого микроокружения трофических язв различной этиологии, применении контролируемой деструкции патологически измененных тканей, использовании обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена.

### **Задачи исследования**

1. На основании анализа карт стационарных и амбулаторных больных изучить особенности течения трофических язв нижних конечностей, в зависимости от этиологии, на фоне общепринятой терапии.
2. Провести гистологический и иммуноморфологический анализы состояния соединительной ткани и клеточного микроокружения дермы кожи в норме и в трофических язвах различной этиологии.
3. Оценить регенераторный потенциал структурных компонентов трофических язв в зависимости от иммунофенотипа специфического тканевого микроокружения кожи. Обосновать молекулярно-клеточные мишени для адресной терапии трофических язв.
4. Разработать методы контролируемой криодеструкции патологически измененных тканей на поверхности раны, изучить эффективность их применения в комплексном лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии.

5. Провести сравнительную оценку эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и донорской плазмы для стимуляции регенерации в эксперименте на животных.

6. Разработать метод сочетанного применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена, изучить эффективность его применения в комплексном лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии во II фазе раневого процесса.

7. Разработать персонализированную технологию регионального лечения больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии, изучить эффективность ее применения.

### **Научная новизна исследования**

С помощью иммуногистохимических методов исследований получены новые данные о состоянии клеточного компонента специфического тканевого микроокружения трофических язв различной этиологии.

Установлено активное участие протеаз тучных клеток в патогенезе раневого процесса, что позволило считать триптазу и химазу перспективными молекулярными мишенями для повышения эффективности терапии длительно незаживающих ран.

Разработаны, запатентованы и внедрены в клиническую практику методики дебридмента, основанные на использовании управляемой криодеструкции патологических тканей на поверхности трофических язв. Определены параметры воздействия и изучена эффективность их применения в комплексном лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии.

Полученные данные экспериментальных исследований указывают на высокую эффективность применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы для стимуляции регенерации в трофических язвах.

Разработан, запатентован и внедрен в клиническую практику метод сочетанного применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена, изучена эффективность его использования в комплексном лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии.

Разработана и научно обоснована персонализированная технология регионального лечения больных с трофическими язвами нижних конечностей различной этиологии, основанная на лечебном комплексе, включающем методы криовоздействия для очищения раневой поверхности и метод комбинированного использования обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена.

Разработана компьютерная программа для прогнозирования по исходным показателям пациента результатов применения новой технологии местного лечения трофических язв различной этиологии.

Изучена клиническая эффективность разработанной персонализированной технологии регионального лечения больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Разработанные методы дебридмента трофических язв, основанные на использовании управляемой криодеструкции патологических тканей на поверхности трофических язв, представляют собой альтернативу хирургической обработке. Преимущество разработанных методик: безболезненная деструкция клеток только поверхностных слоев, т. е. удаляются фенотипически измененные клетки края и основания язвы, ведущие к нарушению процессов регенерации, также удаляются некротические компоненты поверхности, пленки фибрина, биопленки, снижаются колонизация и контаминация. При этом не происходит увеличения размеров трофической язвы.

Разработанная методика сочетанного применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена позволяет повысить биодоступность тромбоцитарных факторов роста в глубоких слоях язвы и более эффективно влиять на процессы заживления, ускоряя эпителизацию и формирование рубца, при этом снижая вероятность его исхода в патологические типы.

Разработанный алгоритм регионального лечения пациентов с трофическими язвами нижних конечностей позволяет подобрать индивидуальное местное лечение с учетом этиологии язвы, фазы раневого процесса, кровоснабжения, состояния микроциркуляции перифокальных тканей, пола и возраста пациента.

## **Достоверность и обоснованность результатов исследования**

Обеспечена представительностью выборки, использованием методов комплексного клинического, лабораторного и инструментального обследования, сочетанием количественного и качественного анализов материалов, применением методов математической статистики с использованием пакета компьютерных программ статистического анализа.

### **Личный вклад автора**

Участие автора составляет не менее 80 % на всех этапах исследования: в проведении обзора литературы, определении цели и задач работы, разработке методов очистки трофических язв и стимуляции регенерации в них, проведении экспериментального исследования, подборе и обследовании пациентов, заборе материала для морфологического исследования, лечении пациентов, обработке полученного материала, подготовке заявок на изобретения, научных публикаций, монографии и докладов.

### **Реализация результатов работы**

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность отделений гнойной хирургии и амбулаторно-поликлинической хирургии Воронежской областной клинической больницы № 1; городского центра амбулаторной хирургии на базе городской клинической больницы скорой медицинской помощи № 10 г. Воронежа; хирургического кабинета городской поликлиники № 1 города Сочи; железнодорожной поликлиники № 2 на ст. Отрожка; хирургического отделения стационарного подразделения № 2 Дорожной клинической больницы на станции Воронеж-1 ОАО «РЖД»; хирургического кабинета поликлиники Видновской районной клинической больницы.

Материалы диссертации используются на лекциях и практических занятиях кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Основные положения и результаты исследования представлены на межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы хирургии» (Воронеж, 2012); Всероссийской научно-практической конференции «Неинфекционные заболевания и здоровье населения России» (Москва,



2014); IX научно-практической конференции «Актуальные вопросы организации, оказания первичной, специализированной медицинской помощи в условиях многопрофильного стационара и на догоспитальном этапе» (Воронеж, 2015); конференции «От функциональной разобщенности к разумной интеграции. Преимущество и взаимодействие при оказании амбулаторно-поликлинической и стационарной медицинской помощи» (Курск, 2015); XII съезде хирургов России (Ростов-на-Дону, 2015); Всероссийской научно-практической конференции «Неинфекционные заболевания и здоровье населения России» (Москва, 2015); Международной научно-практической конференции «Местное и медикаментозное лечение ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых» (Сочи, 2015); научно-практической конференции «Актуальные вопросы хирургической инфекции – особенности лечения трофических язв» (Санкт-Петербург, 2015); VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики синдрома диабетической стопы» (Казань, 2016); научно-практической конференции «Информационные технологии в медицине» (Воронеж, 2016); III Международном конгрессе, посвященном 100-летию со дня рождения академика М.И. Кузина, «Раны и раневые инфекции» (Москва, 2016); X научно-практической конференции «Актуальные вопросы организации, оказания первичной, специализированной медицинской помощи в условиях многопрофильного стационара и на догоспитальном этапе» (Воронеж, 2016); межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы хирургической инфекции» (Воронеж, 2017); Международной научно-практической конференции, посвященной 140-летию со дня рождения профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого «Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых» (Симферополь, 2017); VII научно-практической конференции хирургов (Бурденковские чтения) «Актуальные вопросы хирургии» (Воронеж, 2017); Первом съезде хирургов Центрального федерального округа (Рязань, 2017); IV научно-практической конференции «Инновационные технологии в регенерации биологических тканей» (Воронеж, 2018); IV Международной научной конференции «Постгеномные технологии: от теории к практике» (Воронеж, 2018).

Исследовательская работа отмечена дипломом победителя общероссийского научно-практического мероприятия «Эстафета вузовской науки» по направлению «Регенераторная медицина» (Москва, 2018).

Работа выполнялась в рамках гранта Президента РФ № МК-3494.2017.7 для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук (Конкурс – МК-2017).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 49 печатных работ, в том числе 14 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, 5 статей – в журналах, индексируемых в наукометрической базе Web of Science, 3 статьи – в журналах, индексируемых в наукометрической базе Scopus, а также монография, 2 методические рекомендации, отражающие основное содержание диссертационной работы, получены 3 патента на изобретения, патент на полезную модель, свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, свидетельство о государственной регистрации базы данных.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа состоит из введения, основной части, состоящей из 8 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, состоящего из 251 работы отечественных и 169 зарубежных авторов, 7 приложений. Основное содержание работы изложено на 310 (указывается без списка литературы) страницах машинописного текста. Диссертация иллюстрирована 96 таблицами и 51 рисунком.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. При анализе современной литературы, протоколов лечения пациентов с венозными, артериальными и нейротрофическими язвами нижних конечностей отмечаются до 30 % неудовлетворительных результатов лечения, при этом сохраняется тенденция объединения трофических язв в единую нозологическую форму и универсальные подходы к лечению, не учитывающие этиологический фактор.

2. В результате гистологического и молекулярно-морфологического исследований клеточного микроокружения кожи в норме и в трофических

язвах различной этиологии установлено, что тучные клетки играют важную роль в формировании клинических проявлений трофических язв различной этиологии и определяют течение регенераторных механизмов; популяция тучных клеток в специфическом тканевом микроокружении кожи является важным прогностическим критерием прогрессирования заболевания, а также отражением эффективности проводимой терапии.

3. Биологические эффекты триптазы и химазы тучных клеток обладают выраженным свойством вызывать прогрессирование заболевания, поэтому видится перспективным рассматривать их в качестве одной из адресных мишеней в комплексном лечении трофических язв.

4. Разработаны и внедрены в клиническую практику методики управляемой криодеструкции патологических тканей на поверхности трофических язв в зависимости от их этиологии.

5. Полученные данные экспериментальных исследований указывают на высокую эффективность применения обогащенных тромбоцитами донорской плазмы и аутоплазмы для стимуляции регенерации в хронических ранах.

6. Разработан и внедрен в клиническую практику метод стимуляции регенерации в трофических язвах различной этиологии, основанный на сочетанном применении обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена, в ходе клинических исследований доказана его эффективность в комплексном лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии.

7. Разработана персонализированная технология регионального лечения больных с трофическими язвами нижних конечностей венозной, артериальной и нейротрофической этиологии.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Общая характеристика объектов и методов исследования**

Представленная работа включала 2 раздела исследований: экспериментальный и клинический.

Цель **экспериментального раздела** – изучение и сравнительная оценка клинических и планиметрических изменений в ранах при применении обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и донорской плазмы. Исследование

проведено на 63 белых крысах линии Wistar. У всех животных моделировали хронические раны. Животные разделены на 3 группы. В 1-ю опытную группу вошли животные с хроническими ранами, в которых стимулировали процессы регенерации посредством обкалывания раны обогащенной тромбоцитами аутоплазмой. 2-ю опытную группу составили животные с хроническими ранами, дно и края которых для активации регенерации обкалывали обогащенной тромбоцитами донорской плазмой. В контрольную группу вошли животные, хронические раны у которых не подвергались никакому воздействию. Сравнительный анализ применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и аутоплазмы проводили с помощью следующих методов: клинических (общее состояние животных, характер воспалительной реакции, состояние стенок и дна раны, сроки появления грануляций, характер грануляционной ткани, сроки и активность эпителизации), планиметрических, гистологического. Клинические и планиметрические данные течения раневого процесса фиксировали с первого дня воздействия ежедневно. Забор тканей для гистологического метода исследования осуществляли на 1-е, 3-и, 5-е сутки после введения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) у 7 животных из каждой группы.

**Клинический раздел** работы включал морфологический и клинический модули. Морфологический модуль представлял собой многоплановое исследование биопсийного материала трофических язв различной этиологии, клинический – изучение эффективности разработанных методов местного лечения венозных (I блок исследований), артериальных (II блок исследований) и нейротрофических (III блок исследований) язв.

### **Морфологический модуль**

Исследование проведено на базе научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Для морфологического анализа использовался биоматериал от пациентов с венозными ( $n = 30$ ), артериальными ( $n = 21$ ) и нейротрофическими ( $n = 18$ ) язвами, а также нормальной кожи нижних конечностей

(n = 21). Объектом исследования выступили тучные клетки (ТК) кожи. После фиксации в нейтральном формалине образцы кожи подвергались стандартной процедуре пробоподготовки, применялось окрашивание толуидиновым синим по Романовскому–Гимзе, иммуногистохимическое окрашивание триптазы и химазы. Высчитывалась относительная частота встречаемости каждого пути секреции от общего количества ТК и выражалась в процентах. Для оценки внутривнутрипопуляционного взаимодействия ТК кожи учитывалось их контактирование друг с другом и рассчитывалось в процентах от общей численности популяции. Срезы кожи изучали на микроскопе Zeiss Axio Imager.A2 с системой документирования изображений, включающей цветную камеру Camera Axioscam 506 color и Camera Axioscam 503 mono. Полученные фотографии обрабатывали с помощью программы ZEN 2.3 (Carl Zeiss, Germany). Полученные результаты были адаптированы к площади кожи размером 1 мм<sup>2</sup>.

### **Клинический модуль**

Для местного лечения трофических язв разработаны методики дебридмента раневой поверхности с помощью различных режимов криовоздействия и методика стимуляции регенерации, включающая комплексное применение обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена. Изучение эффективности разработанных методов местного лечения трофических язв проводилось в 3 блоках исследований.

В I блок исследований вошли пациенты с варикозной болезнью нижних конечностей, с 6-м классом хронической венозной недостаточности (ХВН), в соответствии с клинической частью Международной классификации СЕАР. Критерием включения являлось отсутствие хирургических вмешательств на венах нижних конечностей. В рамках данного блока выделены А, Б, В части исследований. В I А блоке изучалась клиническая эффективность применения разработанного способа контактной контролируемой деструкции патологически измененных тканей на поверхности язвы. Пациенты случайным образом разделены на основную (для очищения раны по разработанной методике) и контрольную (для хирургической обработки) группы. С целью изучения клинической эффективности применения разработанной методи-

ки стимулирования регенерации в трофических язвах путем использования комплекса обогащенной тромбоцитами донорской плазмы (ОТДП) и препаратов коллагена (ПК) проведены Б и В части I блока исследований. В I Б блок вошли пациенты с малыми и средними язвами (площадь раны 5–20 см<sup>2</sup>). Для проведения сравнительного исследования с контролем в параллельных группах пациенты случайным образом разделены на одну основную, в которой использовался комплекс ОТДП и ПК, и три контрольные группы: в первой использовали только современные перевязочные средства, во второй – только ПК, в третьей – только ОТДП. В I В блок вошли пациенты с большими (более 20 см<sup>2</sup>) и гигантскими (более 50 см<sup>2</sup>) язвами; восстановление кожных покровов у этой категории больных проводилось с помощью свободной пластики расщепленным перфорированным кожным лоскутом. Для проведения исследования клинической эффективности применения разработанной методики стимулирования регенерации в трофических язвах путем использования комплекса ОТДП и ПК как подготовительного этапа перед аутодермопластикой пациентов случайным образом разделили на одну основную (перед аутодермопластикой использовался комплекс коллагенсодержащих препаратов и обогащенной тромбоцитами донорской плазмы) и три контрольные группы: в первой произведена только аутодермопластика расщепленным кожным лоскутом, во второй – перед аутодермопластикой дно раны инфильтрировали ПК, в третьей – перед аутодермопластикой в дно раны вносилась ОТДП.

Во II блок клинических исследований включены пациенты с хронической артериальной недостаточностью (ХАН) нижних конечностей, у которых консервативное лечение являлось единственным вариантом, ввиду невозможности выполнить радикальную операцию или ее неэффективности. В рамках данного блока также выделены А и Б части исследований. В А части II блока исследований изучали эффективность дебридмента раневой поверхности с помощью криообдува. Пациенты случайным образом разделены на две группы: основную (обработка раны производилась по разработанной методике криообдува) и контрольную (хирургическая обработка). С целью изучения клинической эффективности применения разработанной методики стимулирования регенерации в трофических язвах проведен II Б блок исследований. Для проведения сравнительного анализа с контролем в параллельных группах

пациенты случайным образом разделены на одну основную (использовался комплекс ОТДП и ПК) и три контрольные группы: в первой использовались только современные перевязочные средства, во второй – только ПК, в третьей – только ОТДП.

В III блок исследований вошли пациенты с нейротрофическими язвами (НТЯ). Также провели две части клинических исследований: в А части III блока изучали клиническую эффективность применения разработанного способа контактной контролируемой деструкции патологически измененных тканей на поверхности язвы с последующей гидропрессивной обработкой раны. Пациенты разделены на основную (очищение раны проводилось по разработанной методике) и контрольную (проводилась хирургическая обработка) группы. С целью изучения клинической эффективности применения разработанной методики стимулирования регенерации в трофических язвах проведен III Б блок исследований, в котором сформированы основная (использовался комплекс ОТДП и ПК) и три контрольные группы: в первой использовались только современные перевязочные средства, во второй – только ПК, в третьей – только ОТДП.

Методы исследования в клиническом разделе включали осмотр, при котором учитывались число, локализация, глубина, величина и форма язв. Для динамической регистрации планиметрических параметров раневого дефекта использовалось мобильное приложение +WoundDesk, основанное на применении фотокамеры смартфона с операционной системой Android. Приживление кожного лоскута после аутодермопластики считали удовлетворительным при закрытии более 80 % раны.

Состояние раны оценивали также с помощью бактериологического и цитологического исследований. В диагностике заболеваний, приводящих к образованию трофических язв нижних конечностей, использовали ряд инструментальных методов обследований: ультразвуковое ангиосканирование (УЗАС), ультразвуковую доплерографию (УЗДГ); УЗИ мягких тканей; рентген-контрастную ангиографию и пр.

Для количественного обоснования результатов исследований использовались статистические методы обработки данных: для каждой анализируемой характеристики рассчитывали среднее в пределах группы значение и

стандартную ошибку среднего; для определения достоверности различий между группами пользовались критерием Манна–Уитни. Взаимосвязи между характеристиками пациентов и результатами применения разработанных методик установили с помощью корреляционного и регрессионного анализов. Результаты исследований представлены в цифровых данных в соответствии с Международной системой единиц СИ. Различия считали достоверными при значении  $p \leq 0,05$ .

### **Техническое оснащение экспериментального и клинических исследований**

В работе использовался криоаппарат КРИО-01 «Еламед». Для очищения трофических язв от некротических масс, налета фибрина, биопленок, патологических тканей и стимуляции регенерации в криоаппарате разработаны следующие виды криовоздействий:

- контактная (аппликационная) криодеструкция: температура на рабочей поверхности контактных насадок в диапазоне от  $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$  – скорость охлаждения и отогрева на рабочей поверхности в диапазоне от 10 до  $190\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ ;

- бесконтактная деструкция сухой низкотемпературной газовой струей хладагента: температура струи на срезе сопла теплообменной насадки в диапазоне от  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$ , период и длительность импульсов газовой струи при формировании прерывистой газовой струи в диапазоне от 2 до 30 секунд.

Возможность регулирования в широких пределах температуры на рабочей поверхности насадок в криоинструменте позволяет осуществлять управляемую криодеструкцию. Аналогичная функция доступна и для газоструйного режима. Реализация предельно низких температур газовой струи (до  $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) со скоростью истечения до 3 м/с обеспечивается благодаря преобразованию жидкого хладагента в теплообменной насадке криоинструмента. При криовоздействии на венозные трофические язвы криоаппарат используется в режиме «Деструкция», температура воздействия  $-70\dots-180\text{ }^{\circ}\text{C}$ , время экспозиции не более 5 секунд. В ходе лечения артериальных трофических язв криоаппарат КРИО-01 «Еламед» используется в режиме «Обдув». Для более точечного воздействия и соответственно большей управляемости,



а также для минимизации потерь хладагента разработана насадка, позволяющая работать в режиме «Обдув». При этом слой нежизнеспособных тканей удаляется с помощью ферментов или гидрогелей, эффективность которых после криообработки раневой поверхности возрастает.

Криовоздействие на нейротрофические язвы осуществляется в режиме «Деструкция», температура воздействия  $-130 \dots -180$  °С, время экспозиции – 5 секунд. Через 3–5 суток после криовоздействия на поверхности раны формируется слой нежизнеспособных тканей. Для их быстрого удаления использовалась гидропрессивная обработка.

### **Разработанная методика стимуляции регенерации в трофических язвах**

Для стимуляции регенераторных процессов в длительно незаживающих ранах разработана методика сочетанного применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена. Из цельной крови или с помощью аппаратного афереза получали ОТДП (группы крови донора и реципиента совпадали). Непосредственно перед применением для активирования тромбоцитов ОТДП добавляли 10% раствор хлористого кальция (из расчета 2 мл на 20 мл ОТДП). Производили аккуратное медленное перемешивание до образования густой однородной массы. Рану обкалывали ОТДП из расчета 0,1 мл на 1 см<sup>2</sup> площади, затем на рану укладывали мембрану из нативного нереконструированного коллагена (использовался препарат «Коллост»). Поверхность раны закрывали перевязочным материалом, позволяющим поддерживать влажную, физиологичную для раны среду (использовали гидроколлоидные повязки). Дальнейшее ведение раны заключалось в перевязках в среднем 1 раз в 5 суток с применением атрауматических повязок.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

### **Изучение эффективности применения обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и донорской плазмы в эксперименте**

К исходу первых суток после введения плазмы слабовыраженный отек перифокальных тканей отмечен у 6 (28,6 %) животных 1-й опытной группы, в 4 (19 %) случаях 2-й опытной группы. В контрольной группе у 2

(9,5 %) животных отмечен отек тканей с небольшим диффузным кровотечением, раны покрыты сгустками крови и экссудата.

Морфологическая картина на 1-е сутки во всех препаратах следующая: на поверхности широкий пласт фибрина с примесью частично гемолизированных эритроцитов, тканевого детрита и малого количества клеток лейкоцитарного ряда. Дерма с отеком, густой лейкоцитарной инфильтрацией (преобладают полиморфноядерные лейкоциты), формирующей широкий демаркационный вал, и мелкоочаговыми кровоизлияниями – картина, характерная для острой фазы воспаления после нанесения травмы животным (рис. 1).

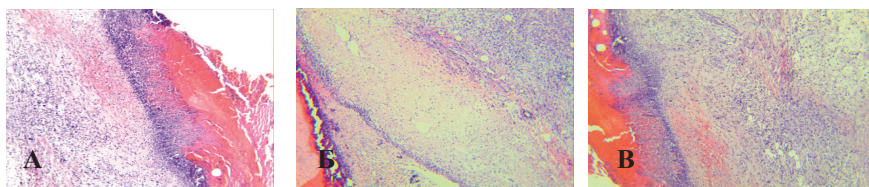


Рисунок 1 – Морфологическая картина на 1-е сутки. Микропрепарат. Увеличение 50. Окраска гематоксилин-эозином. А – 1-я опытная группа, Б – 2- опытная группа, В – контрольная группа

На 3-и сутки отека и гиперемии не наблюдалось ни в одной группе. Заживление проходило под тонкой пленкой струпа. Средняя площадь ран в 1-й опытной группе – 0,79 см<sup>2</sup>, во 2-й опытной группе – 0,63 см<sup>2</sup>, в контрольной – 0,94 см<sup>2</sup>.

При морфологическом исследовании материала, взятого на 3-и сутки, в 1-й опытной группе (рис. 2, А) имеет место разрастание грануляционной ткани с началом эпителизации. В воспалительном инфильтрате преобладают клетки мононуклеарных лейкоцитов, что может говорить о «стихии» воспалительного процесса как в самой ране, так и в прилежащих к ней тканях. Во 2-й опытной группе (рис. 2, Б) поверхность «наползающего» на «соединительнотканную подложку» эпителиального пласта более широкая. «Воспалительный» инфильтрат относительно скудный и представлен преимущественно лимфоцитами и гистиоцитами, что можно расценить как практически полностью «стихий» воспалительный процесс как в самой ране, так и в прилежащих к ней тканях. На микрофотографиях контрольной группы (рис. 2, В) видны разрастания «молодой» грануляционной ткани, в

толще которой имеются мелкоочаговые кровоизлияния и относительно большое количество лейкоцитов – признаки выраженного и активного воспалительного процесса в самой ране.

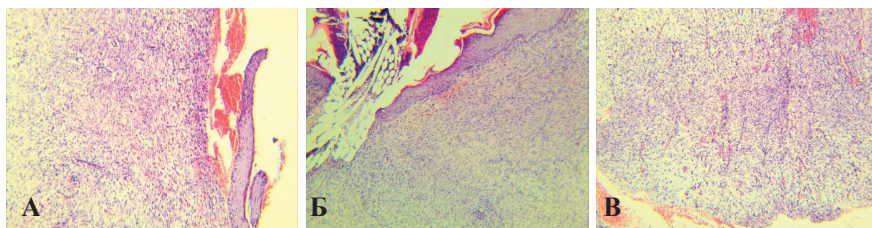


Рисунок 2 – Морфологическая картина на 3-и сутки. Микропрепарат. Увеличение 50. Окраска гематоксилин-эозином. А – 1-я опытная группа, Б – 2-я опытная группа, В – контрольная группа

На 5-е сутки у всех животных раны заживали вторичным натяжением, отека и гиперемии не отмечено. Планиметрическое исследование: средняя площадь ран в 1-й опытной группе – 0,28 см<sup>2</sup>, во 2-й опытной группе – 0,38 см<sup>2</sup>, в контрольной – 0,64 см<sup>2</sup>.

В микропрепаратах, сделанных из материала, взятого на 5-е сутки в 1-й опытной группе (рис. 3, А), виден относительно широкий эпителиальный пласт с хорошо различимыми слоями, подлежащий слой плотной волокнистой соединительной ткани с большим количеством коллагеновых волокон. Капилляры полнокровные, вокруг них – очаговая лейкоцитарная инфильтрация из мононуклеаров. Также видны мелкие островки зрелой жировой ткани обычного гистологического строения. На микропрепаратах 2-й опытной группы (рис. 3, Б) эпителиальный пласт тонкий, и в нем различимы лишь три слоя. Дерма представлена большей частью рыхлой волокнистой соединительной тканью с участками разрастания коллагеновых волокон и скудной периваскулярной инфильтрацией из мононуклеарных лейкоцитов. В микропрепаратах контрольной группы (рис. 3, В) имеются признаки увеличения эпителиального пласта. В толще соединительной ткани определяется относительно густая инфильтрация из мононуклеарных лейкоцитов, что может свидетельствовать об относительно выраженных воспалительных изменениях в полости раны.

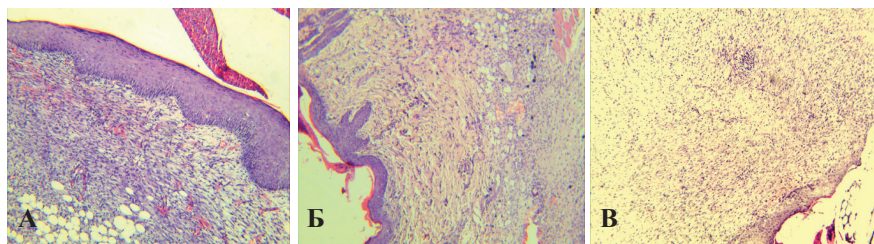


Рисунок 3 – Морфологическая картина на 5-е сутки. Микропрепарат. Увеличение 50. Окраска гематоксилин-эозином. А – 1-я опытная группа, Б – 2-я опытная группа, В – контрольная группа

По результатам исследования заживления ран животных рассчитаны средние значения площади ран  $S$  в трех группах через 3 и 5 суток, а также стандартная ошибка среднего (табл. 1).

Количество животных в группах достаточное, чтобы установить, что различия в площади ран между группами являются статистически значимыми как на 3-и, так и на 5-е сутки. Поэтому более быстрое заживление ран в первой и второй опытных группах по сравнению с контрольной является статистически достоверно установленным.

Таблица 1 – Площадь ран животных исследуемых групп в контрольные периоды времени от начала наблюдения ( $M \pm m$ ),  $cm^2$

| Время от начала наблюдения | Группы             |                    |                    |
|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                            | 1-я опытная группа | 2-я опытная группа | Контрольная группа |
| Через трое суток           | $0,791 \pm 0,025$  | $0,634 \pm 0,019$  | $0,940 \pm 0,018$  |
| Через пятеро суток         | $0,281 \pm 0,025$  | $0,384 \pm 0,028$  | $0,640 \pm 0,030$  |

При использовании ОТДП (2-я опытная группа) через трое суток площадь раны стала меньше на 32,6 %, через пятеро суток – на 40 %, чем в контрольной группе. В 1-й опытной группе (использовалась обогащенная тромбоцитами аутоплазма) через 3-е суток площадь раны стала меньше на 15,6 % по сравнению с контрольной группой, но на 24,8 % больше, чем во 2-й опытной группе. Однако через 5 суток площадь ран в среднем в 1-й опытной группе стала на 56 % меньше, чем в контрольной группе, и на 26,8 % меньше, чем во 2-й опытной группе.

Таким образом, применение обогащенной тромбоцитами донорской плазмы сопоставимо по эффективности с применением аутоплазмы и статистически достоверно дает лучшие результаты по сравнению с контрольной группой.

### **Результаты морфологического исследования трофических язв различной этиологии**

Сегодня благодаря новым технологиям в проведении молекулярно-морфологических исследований продолжают изучаться закономерности, лежащие в основе формирования как адаптивных изменений, так и патологических состояний тканей. С этих позиций обращают на себя внимание тучные клетки (ТК), обладающие широкими возможностями в регуляции местного гомеостаза. Учитывая известное селективное влияние триптазы ТК на главные патогенетические звенья реализации острого и хронического воспаления, исследование ее биологии в деятельности соединительной ткани кожи при имеющихся трофических нарушениях представляет особое значение в хирургии. Другая специфическая протеаза ТК – химаза обладает собственными молекулярными мишенями в развитии воспаления и аллергии, реализации ангиогенеза и ремоделирования внеклеточного матрикса соединительной ткани.

В ходе проведенных исследований определено, что в коже лиц без патологических изменений популяция ТК была распределена неравномерно: ТК, локализованные в сосочковом слое дермы, характеризовались меньшими размерами и небольшим содержанием секреторных гранул в цитоплазме; ТК, сопровождающие сосуды, концевые отделы желез и волосяные луковицы, обладали большими размерами и количеством секреторного материала, были преимущественно овальной формы (рис. 5, А–В).

Часть ТК была солокализована с волокнистым компонентом внеклеточного матрикса дермы кожи. В коже преобладали ТК с одновременной экспрессией протеаз, меньший пул составляли ТК с изолированной секрецией триптазы либо химазы (табл. 2).

Более половины протеаза-содержащих ТК морфологически представляли собой недегранулированные формы (табл. 3).

Таблица 2 – Объем популяции тучных клеток кожи (на 1 мм<sup>2</sup>)

| Вид окрашивания     | Норма      | ХВН          | ХАН         | НТЯ         |
|---------------------|------------|--------------|-------------|-------------|
| Метахромазия        | 12,8 ± 1,3 | 25,5 ± 2,8*  | 14,4 ± 1,9  | 43,1 ± 3,5* |
| Химаза-позитивные   | 9,7 ± 3,9  | 45,8 ± 10,4* | 30,6 ± 4,3* | 75,6 ± 6,3* |
| Триптаза-позитивные | 11,2 ± 3,8 | 51,6 ± 8,7*  | 36,8 ± 6,7* | 66,4 ± 5,4* |

\* p < 0,05 по сравнению с группой «норма»

Таблица 3 – Морфологические эквиваленты секреторных путей протеаз в тучных клетках кожи (в %)

| Формы секреторных путей                        | Норма      | ХВН         | ХАН         | НТЯ         |
|--|------------|-------------|-------------|-------------|
| Триптаза-позитивные ТК                         |            |             |             |             |
| Без признаков секреции                         | 59,2 ± 5,4 | 21,2 ± 3,2* | 18,4 ± 2,1* | 8,4 ± 0,9*  |
| Секреция отдельных гранул                      | 13,0 ± 1,8 | 23,4 ± 2,8* | 28,6 ± 1,9* | 39,2 ± 4,7* |
| Смешанный экзоцитоз + постепенная дегрануляция | 21,8 ± 3,3 | 41,2 ± 5,2* | 40,7 ± 4,6* | 36,0 ± 3,3* |
| Формирование макровезикул                      | 6,0 ± 1,2  | 14,2 ± 2,3* | 12,3 ± 1,8* | 16,4 ± 1,4* |
| Химаза-позитивные ТК                           |            |             |             |             |
| Без признаков секреции                         | 60,3 ± 7,2 | 12,6 ± 1,1* | 19,2 ± 1,5* | 13,8 ± 0,8* |
| Секреция отдельных гранул                      | 8,4 ± 0,9  | 15,4 ± 1,6* | 21,3 ± 1,9* | 33,4 ± 3,5* |
| Смешанный экзоцитоз + постепенная дегрануляция | 25,1 ± 2,2 | 59,4 ± 4,1* | 43,3 ± 3,8* | 37,1 ± 3,4* |
| Формирование макровезикул                      | 6,2 ± 0,5  | 12,6 ± 0,9* | 16,2 ± 0,9* | 15,7 ± 2,0* |

\* p < 0,05 по сравнению с группой «норма»

У пациентов с хронической артериальной недостаточностью после окрашивания толуидиновым синим не происходило достоверных изменений численности метахроматичных ТК в поле зрения. В то же время появлялись ТК небольших размеров (рис. 4, Г).

Однако обнаруживалось достоверное возрастание триптаза-позитивных ТК вместе с химаза-содержащими (табл. 2, рис. 5, А; рис. 6, А). Содержание

триптаза-позитивных ТК в популяции кожи возросло более чем в три раза, характеризуясь высокой достоверностью по сравнению с результатами обследования кожи без патологических изменений (табл. 2). При этом существенно возросло количество ТК с одновременной экспрессией триптазы и химазы, тогда как пул ТК с содержанием исключительно триптазы либо химазы сокращался (табл. 4, рис. 4, А).

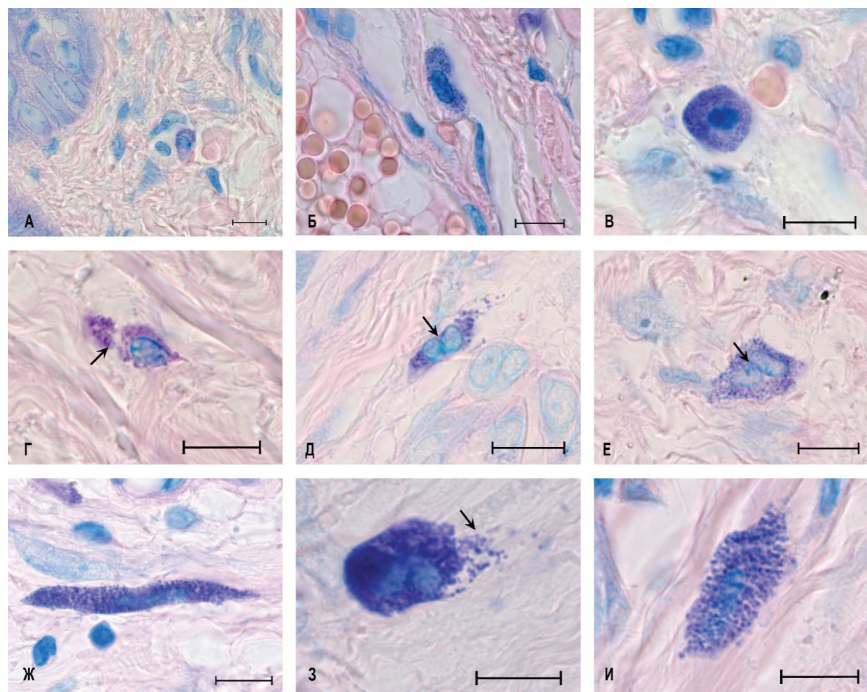


Рисунок 4 – Цитологические особенности ТК кожи.

Фиксация: 10% нейтральный формалин. Методика: окрашивание по Романовскому–Гимзе. Шкала = 10 мкм

Обозначения. А–В – кожа без патологических изменений. ТК овальной формы, без видимых признаков секреторной деятельности, локализованы рядом с венозным отделом микроциркуляторного русла (Б) или капилляром (В). Г – хроническая артериальная недостаточность. ТК малого размера, отшнуровка макроvesикулы (указано стрелкой). Д, Е – хроническая венозная недостаточность. Варианты контактирования ТК друг с другом, близкое располо-

жение ядер (указано стрелкой). Ж–И – нейтрофические язвы. Крупные ТК веретеновидной (Ж) и овальной (И) форм, признаки дегрануляции контактирующих ТК (указано стрелкой) (3).

Обращало на себя внимание формирование групп ТК в определенных локусах специфического тканевого микроокружения дермы кожи. Однако частота контактирования ТК друг с другом снижалась, свидетельствуя о формировании тенденции к разобщению их внутривнутрипопуляционных взаимодействий. Активизация секреторных путей протеаз в тучных клетках проявлялась как за счет выведения отдельных триптаза- и химаза-позитивных гранул во внеклеточный матрикс, так и с помощью образования гранулосодержащих фрагментов цитоплазмы, с большей частотой локализующихся в дерме кожи по сравнению с группой «норма» (табл. 3; рис. 4, Г; рис. 5, Б; рис. 6, Б; рис. 7, В). Одновременно следует отметить и активизацию механизма смешанного экзоцитоза и пейсмеркерной дегрануляции, о чем свидетельствовала высокая иммунопозитивность внеклеточного матрикса на специфические протеазы тучных клеток в перичеселлюлярном пространстве. Интересной находкой стали спазмированные артерии, адвентиция которых была инфильтрирована триптаза-позитивными гранулами ТК (рис. 7, Б).

Таблица 4 – Профиль экспрессии протеаз в тучных клетках кожи (по результатам множественного иммуномаркирования, в %)

| Профиль экспрессии                         | Норма      | ХВН          | ХАН         | ПТЯ         |
|--|------------|--------------|-------------|-------------|
| Триптаза-позитивные                        | 20,3 ± 2,4 | 9,4 ± 1,7*   | 13,7 ± 0,9* | 7,3 ± 1,3*  |
| Химаза-позитивные                          | 15,7 ± 1,4 | 7,2 ± 0,9*   | 12,1 ± 1,1* | 4,3 ± 0,9*  |
| Одновременная экспрессия триптазы и химазы | 67,0 ± 3,8 | 83,4 ± 10,2* | 74,2 ± 7,1* | 88,4 ± 7,2* |

\*  $p < 0,05$  по сравнению с группой «норма»

Определение профиля экспрессии протеаз показало практически полное исчезновение ТК с изолированным содержанием триптазы или химазы, подавляющее число ТК экспрессировало обе протеазы (табл. 4; рис. 7, А, В). Возрастало прилегание химаза-позитивных ТК друг к другу. Достаточно часто при солокализации ТК кариолеммы их ядер практически соприкасались (рис. 4, Д, Е; рис. 6, Е; рис. 7, В).



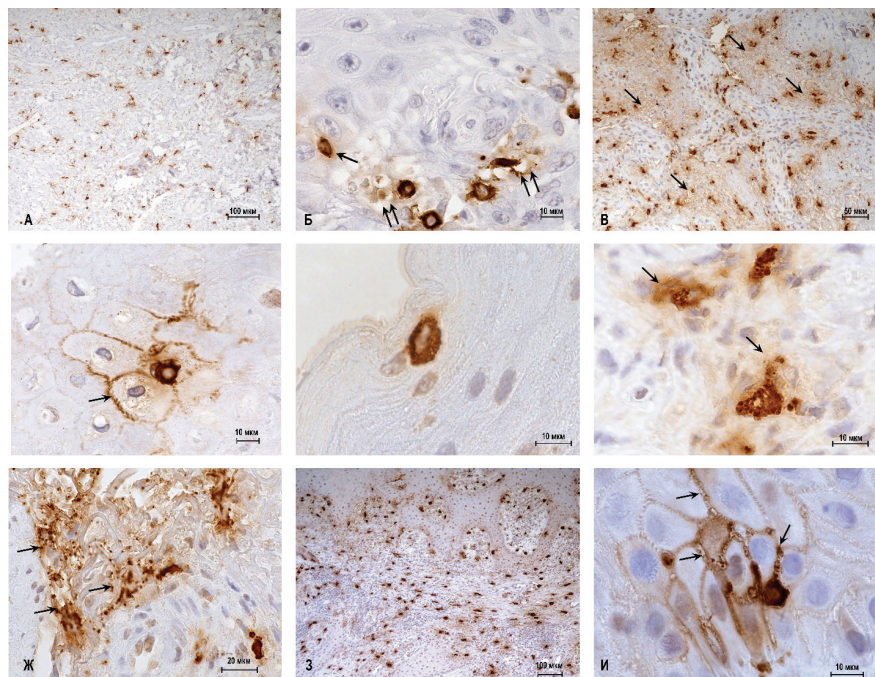


Рисунок 5 – Триптаза-позитивные ТК в коже с трофическими язвами различной этиологии. Фиксация 10% нейтральным формалином.

Методика: иммуногистохимическое окрашивание на триптазу ТК

Обозначения. А–Б – хроническая артериальная недостаточность: А – возрастание численности ТК в коже. Б – ремоделирование тучными клетками внеклеточного матрикса соединительной ткани сосочкового слоя кожи (указано стрелкой), миграция в базальный слой эпидермиса (указано двойной стрелкой). В–Ж – хроническая венозная недостаточность: В – увеличение объема популяции ТК, формирование обширных триптаза-позитивных территорий в сетчатом слое дермы (указано стрелкой). Г – миграция ТК в шиповатый слой эпидермиса с активной секрецией триптазы во внеклеточное пространство (указано стрелкой). Д – проникновение ТК в поверхностные слои эпидермиса. Е – накопление триптазы в экстрацеллюлярном матриксе с формированием протеаза-индуктивных зон (указаны стрелкой). Ж – дегрануляция ТК, в т.ч. механизмом экзоцитоза, высокое содержание триптаза-позитивных гранул во внеклеточном матриксе (указано стрелкой), ремоделирование соединительной ткани дермы. З–И – нейротрофические язвы. Наиболее высокое количество ТК в коже (З),

с активной миграцией в шиповатый слой эпидермиса и секрецией протеазы во внеклеточный матрикс (указано стрелками) (И).

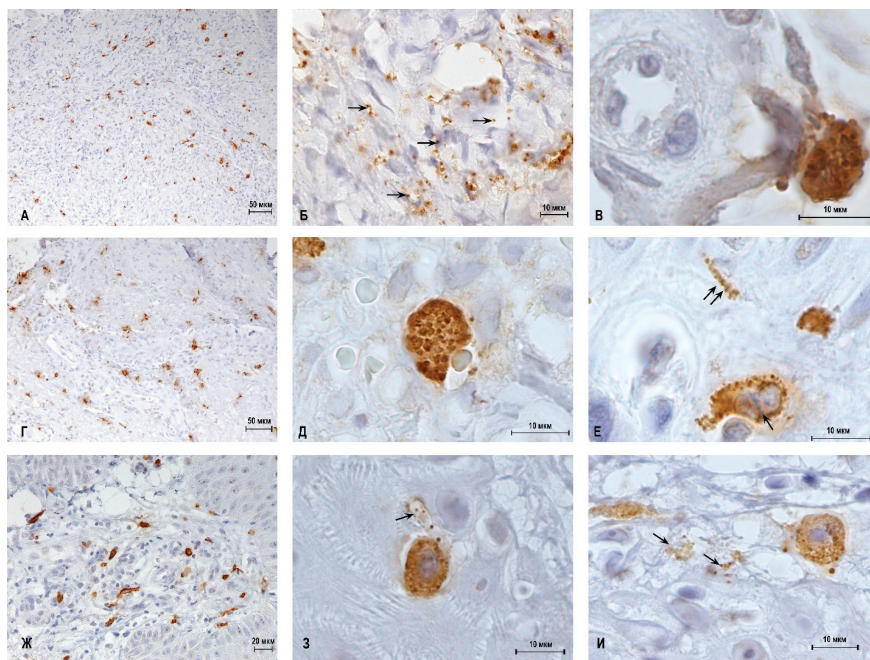


Рисунок 6 – Химаза-позитивные ТК в коже с трофическими язвами различной этиологии. Фиксация: 10% нейтральный формалин.

Методика: иммуногистохимическое окрашивание на химазу ТК

Обозначения. А–В – хроническая артериальная недостаточность: А – возрастание численности химаза-позитивных ТК в дерме кожи. Б – активная секреция химазы во внеклеточный матрикс дермы кожи механизмом экзоцитоза, определяются свободно лежащие гранулы (указано стрелкой). В – локализация секретирующей химазу ТК в области сосуда микроциркуляторного русла. Г–Ж – хроническая венозная недостаточность: Г – повышение количества химаза-позитивных ТК в коже, Д – перикапиллярная локализация ТК, Е – контактирование химаза-содержащих ТК с близким расположением ядер друг к другу (указано стрелкой), химаза-позитивные гранулы и автономный протеаза-содержащий фрагмент ТК в области базальной мембраны эпидермиса (указано двойной стрелкой), Ж – высокое количество химаза-позитивных ТК в сосочковом слое дермы кожи, активно секретирующих протеазу. З, И – нейротрофические язвы; З – отмечают миграция ТК в шиповатый слой эпидермиса и активная секре-

ция химазы (указано стрелкой), И – локализация ТК в области базальной мембраны эпидермиса, гранулы в межклеточном матриксе (указано стрелками).

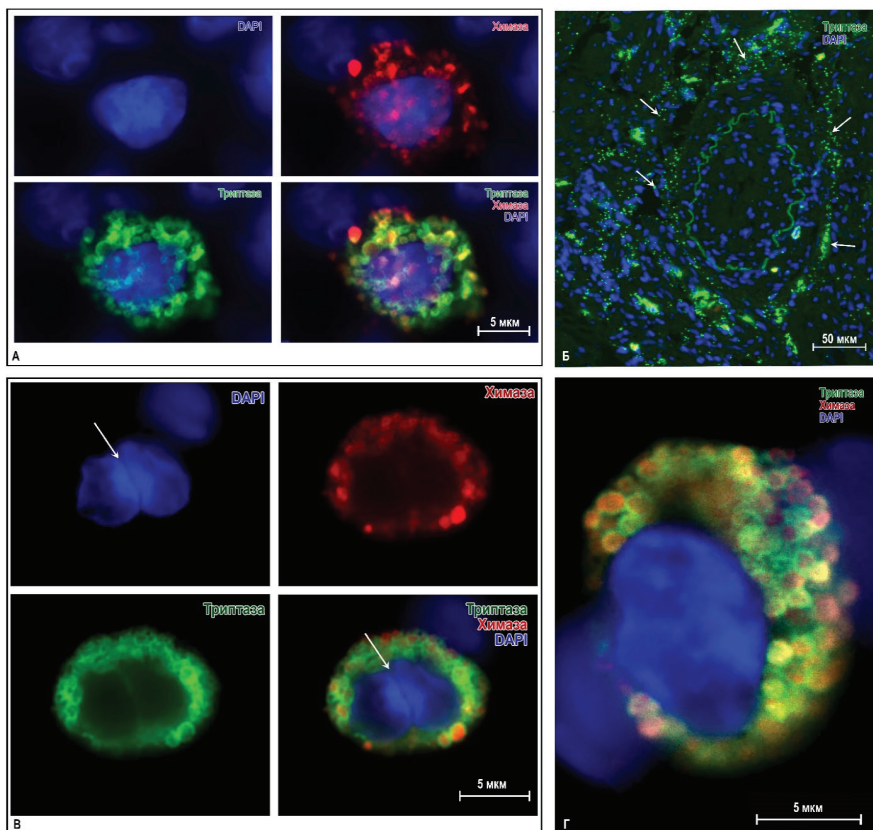


Рисунок 7 – Профиль экспрессии протеаз в ТК кожи с трофическими язвами различной этиологии. Фиксация: 10% нейтральный формалин.

Методика: множественное иммуномаркирование на триптазу и химазу ТК

Обозначения. А, Б – хроническая артериальная недостаточность: А – ТК с одновременной экспрессией триптазы и химазы. Локализация протеаз может быть в разных гранулах, часто встречается солокализация триптазы и химазы в одних и тех же локусах гранул. Б – определяется секреция триптазы ТК в периваскулярное пространство артерии, просвет которой практически отсутствует (указано стрелкой). В – хроническая венозная недостаточность. Тесная солокализация ТК с близким расположением ядер друг к другу (ука-

зано стрелкой). Г – нейротрофическая язва. Крупная ТК с одновременной экспрессией триптазы и химазы. Обнаруживаются гранулы с химазой, триптазой, а также с одновременным содержанием двух протеаз.

При формировании хронической венозной недостаточности происходили более существенные изменения структуры популяции ТК по сравнению с группой контроля, размах которых превышал аналогичные показатели при артериальной недостаточности, в частности, значительно возрастала численность ТК. Достоверно увеличивалось содержание ТК не только после окрашивания толуидиновым синим, но и после иммуногистохимической идентификации протеаз, в несколько раз превышая объем популяции ТК в нормальной коже (рис. 5, В; рис. 6, Г–Ж). При этом возрастало количество химаза-позитивных ТК (табл. 2). В тканевом микроокружении при хронической венозной недостаточности часто выявлялась солокализация ТК с капиллярной сетью (рис. 6, Д).

Группа пациентов с нейротрофическими язвами характеризовалась наиболее выраженным возрастанием объема популяции тучных клеток в коже (табл. 2), а также наиболее крупными их размерами. Кроме того, ТК приобретали выраженный полиморфизм, встречались как овальные, так и резко вытянутые клетки (рис. 4, Ж-И).

ТК обильно инфильтрировали соединительную ткань дермы, что выявлялось при всех протоколах окрашивания (рис. 5, З). Более того, триптаза-позитивные тучные клетки обнаруживались в эпидермальном пласте, локализуясь в межклеточном пространстве. Обращает на себя внимание не только локализация ТК в толще эпидермиса, но и интенсивная секреция протеаз (табл. 3; рис. 5, И). Активная дегрануляция триптазы и химазы ТК приводила к разобщению клеток шиповатого слоя друг от друга, уменьшая барьерную функцию эпителиального пласта (рис. 5, И; рис. 6, З). Кроме того, ТК локализовались между недифференцированными клетками базального слоя эпидермиса, что не наблюдалось в группе контроля. Возрастала частота прилегания ТК к базальной мембране (рис. 6, И). В дерме возрастала частота выявления отдельных протеаза-позитивных фрагментов ТК.

Таким образом, выявленные молекулярно-биологические особенности ТК при трофических язвах кожи нижних конечностей различной этиологии открывают новые возможности в диагностике степени прогрессирования

воспаления, оценке масштаба развития патологического процесса, мониторинге эффективности проводимой терапии и свидетельствуют о перспективности использования специфических протеаз ТК в качестве мишени для адресной терапии.

### **Эффективность персонализированной технологии местного лечения у больных с трофическими язвами венозной этиологии**

Разработанный способ дебридмента венозных трофических язв, в отличие от классической хирургической обработки, позволяет значительно снизить болевые ощущения: с 1,23 до 0,83 балла. Статистически значимые изменения в лучшую сторону отмечены по показателям экссудации (выраженность показателя снижается с 1,85 до 1,30 балла) и гиперемии (снижается с 1,19 до 0,96 балла). Однако при использовании криодеструкции увеличивается отек перифокальных тканей (с 1,17 до 1,39 балла), что объясняется воздействием температурного фактора (табл. 5).

Таблица 5 – Результаты лечения больных в группах I А блока

| Показатель             | Основная группа |              | Контрольная группа |              |
|------------------------|-----------------|--------------|--------------------|--------------|
|                        | исходный        | через 5 сут. | исходный           | через 5 сут. |
| Боль                   | 1,67 ± 0,06     | 0,83 ± 0,07* | 1,65 ± 0,07        | 1,23 ± 0,06  |
| Экссудация             | 2,06 ± 0,15     | 1,30 ± 0,13* | 2,23 ± 0,13        | 1,85 ± 0,15  |
| Гиперемия              | 0,78 ± 0,10     | 0,96 ± 0,09* | 1,46 ± 0,14        | 1,19 ± 0,11  |
| Отек                   | 1,56 ± 0,12     | 1,39 ± 0,11* | 2,08 ± 0,14        | 1,17 ± 0,11  |
| Вид цитограммы         | 1,17 ± 0,05     | 2,04 ± 0,05* | 1,21 ± 0,06        | 1,73 ± 0,08  |
| Ig (КОЕ/г)             | 6,39 ± 0,19     | 2,61 ± 0,18  | 6,35 ± 0,22        | 2,92 ± 0,19  |
| Фаза раневого процесса | 1,00 ± 0,00     | 1,89 ± 0,04* | 1,00 ± 0,00        | 1,65 ± 0,07  |

\* Статистически достоверное отличие показателя в основной группе по сравнению с контрольной с уровнем  $p \leq 0,05$

При использовании разработанного способа цитограммы приобретают регенераторный тип уже к 5-м суткам. При бактериологическом исследовании статистически значимого различия в группах не обнаружено.

Преимущество разработанного способа проявляется также в более быстром переходе во II фазу раневого процесса (табл. 5).

При использовании разработанной методики стимуляции регенерации отмечено уменьшение болевых ощущений в основной группе через 7 и 14 суток по сравнению с 1-й контрольной группой, где использовали современные перевязочные средства, и значительное снижение болевых ощущений по сравнению со всеми контрольными группами через 30 суток. Экссудация в течение 7 суток в основной группе была выше по сравнению с контрольными группами, однако в дальнейшем стала существенно уменьшаться и оказалась ниже на 14-е сутки, чем при использовании современных перевязочных средств, а на 30-е сутки экссудация в основной группе оказалась меньше, чем при отдельном использовании ОТДП и ПК. Гиперемия и отек в процессе заживления раны в целом ниже по сравнению с контрольными методиками: по данным показателям преимущество разработанной методики статистически выражено по сравнению с методикой применения современных перевязочных средств в течение всего процесса заживления; по сравнению с методикой использования только коллагенсодержащих препаратов преимущество особенно выражено на 14-е сутки; по сравнению с методикой использования обогащенной тромбоцитами донорской плазмы – на начальных этапах заживления (7-е сутки) (табл. 6).

Таблица 6 – Статистическая значимость отличий показателей основной и контрольных групп больных в I Б блоке исследований

| Показатель    | Сроки исследования |               |               |
|---------------|--------------------|---------------|---------------|
|               | через 7 сут.       | через 14 сут. | через 30 сут. |
| Боль          | 1                  | 1             | 1, 2, 3       |
| Экссудация    | 2                  | 1             | 1, 2, 3       |
| Гиперемия     | 1, 3               | 1, 2, 3       | 1             |
| Отек          | 1, 3               | 1, 2, 3       | 1, 2          |
| Вид цитогаммы | –                  | –             | 1, 2          |
| Эпителизация  | –                  | –             | 1, 2          |
| Грануляции    | –                  | –             | 1, 2          |
| Ig (КОЕ/г)    | –                  | –             | 1, 2          |

Примечание. В ячейках таблицы указаны номера контрольных групп, по сравнению с которыми основная группа имеет статистически значимое отличие показателя, с уровнем  $p \leq 0,05$

При использовании разработанной методики стимуляции регенерации площадь ран сокращается через один и два месяца в среднем на 24 % быстрее по сравнению с контрольными группами.

Применение разработанной методики стимуляции регенерации для улучшения результатов аутодермопластики трофических язв с площадью более 20 см<sup>2</sup> достоверно приводит к лучшей приживляемости пересаженного лоскута по сравнению с только аутодермопластикой (1-я контрольная группа) и аутодермопластикой с подготовкой раны ОТДП (3-я контрольная группа). Но так как отсутствует статистически значимое отличие от контрольной группы, где аутодермопластика сопровождалась использованием ПК, по-видимому, именно последние играют решающее значение в темпе уменьшения площади раны (табл. 7). Через 60 суток статистически значимое различие наблюдается только с группой, в которой использовали аутодермопластику без дополнительных препаратов. Поэтому с точки зрения заживления раны в двухмесячной перспективе целесообразно использовать либо ПК, либо ОТДП.

Таблица 7 – Статистическая значимость отличий показателей основной группы от контрольных в I В блоке исследований

| Показатель     | Сроки исследования |               |               |
|----------------|--------------------|---------------|---------------|
|                | через 7 сут.       | через 14 сут. | через 30 сут. |
| Боль           | –                  | 2             | –             |
| Экссудация     | –                  | 1, 2, 3       | 2, 3          |
| Гиперемия      | 1, 2               | 1, 2, 3       | 1, 2, 3       |
| Отек           | 1                  | 1, 2, 3       | 1, 3          |
| Вид цитограммы | –                  | –             | –             |
| Эпителлизация  | –                  | –             | 1, 3          |
| Приживляемость | –                  | –             | 1             |

Примечание. В ячейках таблицы указаны номера контрольных групп, по сравнению с которыми основная группа имеет статистически значимое отличие показателя, с уровнем  $p \leq 0,05$

Таким образом, дебридмент разработанным способом контактной контролируемой криодеструкции на поверхности венозных трофических язв, в

отличие от классической хирургической обработки, позволяет значительно снизить болевые ощущения, уменьшить экссудацию, ускоряет переход во II фазу раневого процесса.

Применение разработанной методики стимуляции регенерации в трофических язвах приводит к уменьшению площади ран через один и два месяца в среднем на 24 % быстрее по сравнению с контрольными группами. При этом в процессе заживления в большей степени, чем в контрольных группах, снижаются болевые ощущения, экссудация, гиперемия и отек.

В процессе лечения трофических язв с площадью более 20 см<sup>2</sup> эффективность комбинированного использования ОТДП и ПК выше только перед аутодермопластикой, поэтому целесообразно использовать либо коллагенсодержащие препараты, либо обогащенную тромбоцитами донорскую плазму.

### **Эффективность персонализированной технологии местного лечения трофических язв на фоне критической ишемии нижних конечностей**

Разработанный способ дебридмента ишемических трофических язв приводит к снижению боли на 5-е сутки с 1,93 до 1,24 балла, при хирургической обработке ран боль увеличивается с 2,02 до 2,83 балла, то есть применение криообдува раневой поверхности приводит к снижению боли в среднем на 1,5 балла (табл. 8).

Разработанный способ позволяет быстрее добиться бактериальной элиминации в ране: за первые 5 суток показатель КОЕ (10<sup>8</sup>/г) снижается с 5,15 до 2,41, в то время как при классической хирургической обработке данный показатель за 5 суток снижается с 5,52 до 3,39 (табл. 8).

Отрицательным эффектом применения разработанного способа дебридмента является увеличение отека с 0,93 до 1,46 балла за 5 суток, тогда как при классической хирургической обработке отек, наоборот, снижается с 1,15 до 0,93 балла (табл. 8).

Сравнительный статистический анализ показал, что разработанная методика стимуляции регенерации имеет существенное преимущество перед изолированным применением препаратов коллагена и современных перевязочных средств по четырем показателям: боль, экссудация, гиперемия, отек – через 7, 14, 30 суток (табл. 9).



Таблица 8 – Результаты лечения больных в группах II А блока исследований

| Показатель             | Основная группа |              | Контрольная группа |              |
|------------------------|-----------------|--------------|--------------------|--------------|
|                        | исходный        | через 5 сут. | исходный           | через 5 сут. |
| Боль                   | 1,93 ± 0,05     | 1,24 ± 0,07* | 2,02 ± 0,04        | 2,83 ± 0,06  |
| Экссудация             | 1,10 ± 0,11     | 1,32 ± 0,11  | 1,54 ± 0,13        | 1,50 ± 0,13  |
| Гиперемия              | 0,93 ± 0,07     | 0,71 ± 0,12  | 0,70 ± 0,12        | 0,59 ± 0,12  |
| Отек                   | 0,93 ± 0,07     | 1,46 ± 0,08* | 1,15 ± 0,09        | 0,93 ± 0,10  |
| Вид цитограммы         | 1,12 ± 0,05     | 1,85 ± 0,06* | 1,07 ± 0,04        | 1,37 ± 0,07  |
| Эпителизация           | –               | –            | 0,15 ± 0,05        | 0,00 ± 0,00  |
| Грануляции             | –               | –            | 0,15 ± 0,05        | 0,26 ± 0,07  |
| Ig (КОЕ/г)             | 5,15 ± 0,23     | 2,41 ± 0,25* | 5,52 ± 0,26        | 3,39 ± 0,19  |
| Фаза раневого процесса | 1,00 ± 0,00     | 1,80 ± 0,06* | 1,00 ± 0,00        | 1,37 ± 0,07  |

\* Статистически достоверное отличие показателя в основной группе по сравнению с контрольной с уровнем  $p \leq 0,05$

Таблица 9 – Статистическая значимость отличий показателей основной группы от контрольных во II Б блоке исследований

| Показатель     | Сроки исследований |               |               |
|----------------|--------------------|---------------|---------------|
|                | через 7 сут.       | через 14 сут. | через 30 сут. |
| Боль           | 1                  | 1, 2, 3       | 1, 2, 3       |
| Экссудация     | 1, 2, 3            | 1, 2, 3       | 1, 2, 3       |
| Гиперемия      | 1, 2, 3            | 2, 3          | 1, 2, 3       |
| Отек           | 1, 2, 3            | 1, 2, 3       | 1, 2, 3       |
| Вид цитограммы | –                  | –             | 1, 3          |
| Эпителизация   | –                  | 1             | 1, 2, 3       |
| Грануляции     | –                  | –             | 1, 2          |
| Ig (КОЕ/г)     | –                  | –             | 1, 2, 3       |

Примечание. В ячейках таблицы указаны номера контрольных групп, по сравнению с которыми основная группа имеет статистически значимое отличие показателя, с уровнем  $p \leq 0,05$

Использование комплекса коллагенсодержащих препаратов и обогащенной тромбоцитами донорской плазмы по сравнению с остальными методиками статистически достоверно ускоряет эпителизацию и рост грануляций к 30-м суткам и обеспечивает преимущество разработанной методики перед всеми контрольными (табл. 9).

На 14-е сутки наибольший эффект в снижении площади раны дает использование только обогащенной тромбоцитами донорской плазмы, без коллагенсодержащих препаратов.

Таким образом, в результате применения разработанной методики дебридмента ишемических трофических язв снижаются интенсивность боли, бактериальная элиминация, в большем количестве случаев на 5-е сутки состояние раны соответствует II фазе раневого процесса.

Разработанная методика стимулирования регенерации в трофических язвах имеет существенное преимущество перед изолированным применением препаратов коллагена и современных перевязочных средств по таким показателям, как боль, экссудация, гиперемия, отек. К 30-м суткам грануляции и эпителизация наиболее выражены в основной группе, где применялся комплекс препаратов, по сравнению со всеми контрольными.

Эффективность методики комбинированного использования ОТДП и ПК существенно выше современных перевязочных средств и отдельного применения ПК и ОТДП.

### **Эффективность персонализированной технологии местного лечения нейротрофических язв**

Данные, полученные в ходе исследования эффективности разработанной методики криогенного дебридмента, демонстрируют следующие ее преимущества перед хирургической обработкой. После выполнения последней боль за первые 5 суток заметно возросла – с 0,19 до 0,45 балла, при использовании разработанного способа боль остается практически на том же уровне: с 0,11 увеличилась лишь до 0,16. Надо отметить, что через пять суток гиперемия в основной группе оказывается выше, чем в контрольной, а эпителизация – ниже. Однако данные ухудшения составляют незначительные величины: гиперемия выше на 0,11 балла, а эпителизация ниже на 0,19 балла (табл. 10).

Таблица 10 – Результаты лечения больных в группах III А блока исследований

| Показатель             | Основная группа |              | Контрольная группа |              |
|------------------------|-----------------|--------------|--------------------|--------------|
|                        | исходный        | через 5 сут. | исходный           | через 5 сут. |
| Боль                   | 0,11 ± 0,05     | 0,16 ± 0,06* | 0,19 ± 0,06        | 0,45 ± 0,08  |
| Экссудация             | 0,23 ± 0,06     | 0,36 ± 0,07  | 0,14 ± 0,05        | 0,48 ± 0,08  |
| Гиперемия              | 0,23 ± 0,06     | 0,30 ± 0,07* | 0,14 ± 0,05        | 0,19 ± 0,06  |
| Отек                   | 0,23 ± 0,06     | 0,30 ± 0,07  | 0,14 ± 0,05        | 0,33 ± 0,07  |
| Вид цитограммы         | 1,27 ± 0,07     | 2,02 ± 0,07* | 1,07 ± 0,04        | 1,86 ± 0,05  |
| Эпителизация           | 1,75 ± 0,07     | 0,45 ± 0,08* | 1,76 ± 0,08        | 0,64 ± 0,07  |
| Грануляции             | 0,75 ± 0,07     | 0,77 ± 0,06* | 0,60 ± 0,08        | 0,07 ± 0,04  |
| Ig (КОЕ/г)             | 6,27 ± 0,19     | 2,75 ± 0,26  | 5,83 ± 0,25        | 2,50 ± 0,26  |
| Фаза раневого процесса | 1,00 ± 0,00     | 2,00 ± 0,00* | 1,00 ± 0,00        | 1,67 ± 0,07  |

\* Статистически достоверное отличие показателя в основной группе по сравнению с контрольной с уровнем  $p \leq 0,05$

Разработанный способ позволяет существенно ускорить появление грануляций уже на 5-е сутки до 0,77 балла против 0,07 балла при использовании хирургической обработки. Тем самым значительно быстрее рана переходит во II фазу раневого процесса, в числовом выражении: с 1,00 до 2,00 за 5 суток, в то же время при использовании классической хирургической обработки фаза раневого процесса изменяется с 1,00 до 1,67. При цитологическом исследовании на 5-е сутки у большего числа пациентов отмечен сдвиг цитограммы в сторону регенерации (2,02 вместо 1,86) (табл. 10).

Стимуляция регенерации с использованием комплекса коллагенсодержащих препаратов и обогащенной тромбоцитами донорской плазмы имеет преимущество по наиболее важным показателям перед другими методиками (табл. 11). Использование предложенной методики и отдельно обогащенной тромбоцитами донорской плазмы не оказывает существенного влияния на такие показатели, как экссудация, гиперемия, отек, а использование только коллагенсодержащих препаратов или современных перевязочных средств

усугубляет ситуацию по этим показателям. Разработанная методика позволяет добиться выраженной эпителизации уже к 14-м суткам по сравнению с современными перевязочными средствами. Однако такие же результаты получены при использовании чего-то одного: либо ПК, либо ОТДП. На 14-е и 30-е сутки грануляции выражены больше при использовании предложенной методики, чем при использовании современных перевязочных средств или при раздельном использовании ПК, либо ОТДП через 30 суток. Цитологическое исследование подтверждает более выраженные регенераторные процессы в основной группе через 30 суток по сравнению с контрольными методиками (табл. 11).

Таблица 11 – Статистическая значимость отличий показателей основной группы от контрольных в III Б блоке исследований

| Показатель         | Сроки исследований |               |               |
|--------------------|--------------------|---------------|---------------|
|                    | через 7 сут.       | через 14 сут. | через 30 сут. |
| S, см <sup>2</sup> | –                  | 1, 2          | 1, 2, 3       |
| Боль               | 1, 3               | 1, 3          | 1, 2          |
| Экссудация         | –                  | 2             | –             |
| Гиперемия          | 1, 2               | 1, 2          | –             |
| Отек               | 1, 2               | 1, 2          | –             |
| Вид цитогаммы      | –                  | –             | 1, 2, 3       |
| Эпителизация       | –                  | 1, 2, 3       | 1             |
| Грануляции         | –                  | 1             | 1, 2, 3       |
| Ig (КОЕ/г)         | –                  | –             | 1, 2          |

Примечание. В ячейках таблицы указаны номера контрольных групп, по сравнению с которыми основная группа имеет статистически значимое отличие показателя с уровнем  $p \leq 0,05$

Площадь раны через 14 суток значительно меньше при использовании разработанной методики комплексного применения ОТДП и ПК и при отдельном применении ОТДП по сравнению с современными перевязочными средствами или при применении только ПК. Площадь раны через 30 и 60 суток значительно ниже при использовании разработанной методики по сравнению со всеми контрольными группами.

Данные, полученные в ходе исследования, демонстрируют, что использование криодеструкции для очищения поверхности нейротрофических язв по большинству показателей имеет преимущество перед хирургической обработкой.

Использование комплекса коллагенсодержащих препаратов и обогащенной тромбоцитами донорской плазмы имеет преимущество по основным показателям перед другими методиками.

## **ВЫВОДЫ**

1. При анализе данных современной литературы, медицинских карт пациентов с венозными, артериальными и нейротрофическими язвами нижних конечностей выявлено, что в ряде случаев отмечается недостаточная эффективность общепринятых методов воздействия при указанной патологии. В настоящее время накоплены обширные сведения об участии различного клеточного компонента в процессах регенерации, в то же время сведений об особенностях клеточного компонента в процессах регенерации именно в трофических язвах различной этиологии не выявлено.

2. В результате молекулярно-морфологического исследования установлено: в трофических язвах на фоне критической ишемии нижних конечностей достоверно возросло количество триптаза-позитивных тучных клеток до  $36,8 \pm 6,7$  ( $11,2 \pm 3,8$  в здоровой коже) и тучных клеток с одновременной экспрессией триптазы и химазы  $74,2 \pm 7,1$  ( $67,0 \pm 3,8$  в здоровой коже); в венозных трофических язвах популяция тучных клеток достигала  $25,5 \pm 2,8$  (в здоровой коже общее количество тучных клеток при окраске толуидиновым синим составило  $12,8 \pm 1,3$  в поле зрения), количество химаза-позитивных тучных клеток  $45,8 \pm 10,4$  (в здоровой коже  $9,7 \pm 3,9$ ); в нейротрофических язвах объем общей популяции тучных клеток в коже возрастал до  $43,1 \pm 3,5$ , что в 3,5 раза больше, чем у здоровых лиц ( $12,8 \pm 1,3$ ), количество химаза-позитивных тучных клеток увеличилось в 7,6 раза, триптаза-позитивных – в 6 раз. Таким образом, популяция тучных клеток отражает динамику прогрессирования заболевания и эффективность проводимой терапии. В связи с этим видится перспективным рассматривать тучные клетки в качестве

прогностического критерия и одной из мишеней для комплексного лечения трофических язв.

3. Разработанные методы дебридмента, основанные на использовании управляемой криодеструкции патологических тканей на поверхности трофических язв, ускоряют переход раневого процесса во II фазу у пациентов с венозными трофическими язвами на 12 %, при критической ишемии нижних конечностей на 27 %, в случае нейротрофических язв на 70 % ( $p \geq 0,05$ ).

4. В эксперименте на животных доказана эффективность применения в местном лечении длительно незаживающих ран обогащенной тромбоцитами аутоплазмы и донорской плазмы для стимуляции регенерации в тканях: при использовании обогащенной тромбоцитами донорской плазмы площадь ран в среднем на 3-и сутки сократилась на 44 %, при использовании обогащенной тромбоцитами аутоплазмы – на 37 %, в контрольной группе – на 17 %; на 5-е сутки при использовании обогащенной тромбоцитами донорской плазмы площадь ран уменьшилась на 66 %; на фоне обогащенной тромбоцитами аутоплазмы – на 75 %, в контрольной группе – на 43 %. Таким образом, применение обогащенной тромбоцитами донорской плазмы по эффективности сопоставимо с применением обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, но в ряде случаев технически и организационно более обоснованно.

5. Разработанный метод стимуляции регенерации в трофических язвах, основанный на совместном применении обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена, достоверно способствует сокращению площади трофических язв. При этом установлено, что основное стимулирующее действие на нейротрофические язвы оказывает коллаген, на венозные язвы – обогащенная тромбоцитами плазма, в трофических язвах на фоне критической ишемии нижних конечностей достоверно эффективнее совместное использование обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена.

6. Разработанная персонализированная технология регионального лечения больных с трофическими язвами нижних конечностей позволяет подобрать индивидуальное местное лечение трофической язвы, учитывая соматический статус пациента, заболевание, приведшее к развитию трофической

язвы, особенности течения раневого процесса, сопутствующую патологию. Применение разработанного алгоритма обеспечивает ускорение процессов очищения язвы от патологических тканей, купирования воспалительных явлений и активацию регенерации по сравнению с контрольными группами, где использовались общепринятые методы воздействия.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. С целью повышения эффективности местного лечения в комплексной терапии больных с трофическими язвами нижних конечностей предлагается использовать методики управляемого криовоздействия на раневую поверхность как альтернативу хирургической обработке ран для очищения и перевода раневого процесса во II фазу.

2. Для очищения раневой поверхности венозных трофических язв от патологических тканей рекомендуется использовать контактную контролируемую криодеструкцию. Криовоздействие осуществляют жидким азотом при температуре  $-180^{\circ}\text{C}$ , время экспозиции не более 5 секунд, максимально охлажденным аппликатором; если язва значительно превосходит поверхность аппликатора, то последний последовательно перемещают до охвата всей поверхности раны, не задерживаясь на каждом участке более 5 секунд.

3. Для дебридмента поверхности трофических язв на фоне критической ишемии нижних конечностей рекомендуется использовать криоаппарат в режиме бесконтактной деструкции сухой низкотемпературной газовой струей хладагента с помощью разработанной насадки. Такой режим относится к низкоинтенсивному воздействию, то есть возможные болевые ощущения сведены к минимуму. Криоагент распыляется непосредственно на поверхность трофической язвы. В момент криовоздействия ярко-белый цвет тканей указывает на границы зоны замораживания.

4. Во II фазе раневого процесса для стимуляции регенерации в трофических язвах рекомендуется сочетанное применение обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена. В дно и края раны вводится обогащенная тромбоцитами донорская плазма из расчета 0,1 мл полученного и активированного раствора на  $1\text{ см}^2$  раневой площади при глубине вко-

ла 0,3–0,5 см, затем укладывается коллагеновая мембрана толщиной 1,5 мм, при этом необходимо закрыть более 80 % раневой поверхности; на поверхность трофической язвы помещается перевязочный материал, позволяющий поддерживать влажную, физиологичную для раны среду. В дальнейшем ведение раны заключается в перевязках, в среднем 1 раз в 3–5 суток с применением атравматических повязок.

5. В случае проведения аутодермопластики венозных трофических язв расщепленным кожным лоскутом для повышения жизнеспособности и приживляемости последнего рекомендуется использовать или обогащенную тромбоцитами плазму, или препараты коллагена в виде геля.

6. Рекомендуется дифференцированно подходить к местному лечению различных трофических язв, в зависимости от их этиологии и площади: в местном лечении малых и средних венозных трофических язв с целью очищения раны использовать контактную контролируемую криодеструкцию патологических тканей на раневой поверхности, с последующей стимуляцией регенерации комплексом обогащенной тромбоцитами донорской плазмы и препаратов коллагена; для повышения жизнеспособности и приживляемости кожного трансплантата при аутодермопластике больших и гигантских трофических язв рекомендуется использовать обогащенную тромбоцитами донорскую плазму или препараты коллагена в виде геля; в комплексном лечении трофических язв на фоне критической ишемии нижних конечностей для дебридмента раны рекомендуется использовать криоаппарат в режиме бесконтактной деструкции сухой низкотемпературной газовой струей хладагента, а для стимуляции регенерации использовать обогащенную тромбоцитами донорскую плазму; в нейротрофических язвах патологические ткани рекомендуется удалять с помощью контактной контролируемой криодеструкции, далее для стимуляции регенерации использовать комплекс коллагенсодержащих препаратов и обогащенной тромбоцитами донорской плазмы.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Glukhov, A. A. The study of the effectiveness of the drug combination of collagen and platelet-rich plasma for the regional treatment of venous ulcers /



A. A. Glukhov, **M. V. Aralova**. – Text : electronic // **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 2258–2263.

2. The efficacy of platelet-rich donor plasma for the topical treatment of trophic venous ulcers / **M. V. Aralova**, A. A. Glukhov, E. S. Ovsyannikov, A. N. Redkin. – Text : electronic // **International journal of biomedicine**. – 2017. – Vol. 7, № 2. – P. 289–292.

3. Combined method of treatment of ischemic trophic ulcers / **M. V. Aralova**, N. N. Korotkikh, Y. N. Alimkina [et al.]. – Text : electronic // **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. – 2018. – Vol. 9, № 3. – P. 136–143. – (Co-auth.: T. N. Petrova, V. S. Bordachyova).

4. **Aralova, M. V.** Rational antibiotic therapy of trophic lesions of lower extremities of various etiology / M. V. Aralova, Y. N. Alimkina, A. A. Gluhov. – Text : electronic // **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. – 2018. – Vol. 9, № 1. – P. 410–414.

5. The effectiveness of local application of titanium aquacomplex of glitzerosolvate in the treatment of destructive forms of erysipelas / A. A. Gluhov, A. A. Andreev, O. S. Mokhova [et al.]. – Text : electronic // **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. – 2018. – Vol. 9, № 4. – P. 441–446. – (Co-auth.: S. N. Boev, T. G. Nikishina, A. P. Ostroushko, E. A. Brazhnik, **M. V. Aralova**, E. V. Mikulich, M. E. Ngabire).

6. Глухов, А. А. Патофизиология длительно незаживающих ран и современные методы стимуляции раневого процесса. – Текст : непосредственный / А. А. Глухов, **М. В. Аралова** // **Новости хирургии**. – 2015. – Т. 23, № 6. – С. 673–679.

7. Глухов, А. А. Клиническая эффективность различных способов дебридмента трофических язв венозной этиологии. – Текст : непосредственный / А. А. Глухов, **М. В. Аралова** // **Новости хирургии**. – 2017. – Т. 25, № 3. – С. 257–266.

8. Бражник, Е.А. Применение дерината и титана аквакомплекса глицеро-сольвата в комплексном лечении деструктивных форм рожистого воспаления. – Текст : непосредственный / Е. А. Бражник, А. А. Глухов, **М. В. Аралова** // **Вестник хирургии им. И.И. Грекова**. – 2017. – Т. 176, № 6. – С. 71–74.

9. **Аралова, М. В.** Концентрированная суспензия тромбоцитов и коллаген в лечении трофических язв больших размеров. – Текст : непосредственный / М. В. Аралова, А. А. Глухов // **Вестник хирургии им. И. И. Грекова.** – 2018. – Т. 178, № 1. – С. 59–62.

10. **Аралова, М. В.** Лечение трофических язв нижних конечностей гидроактивными раневыми покрытиями. – Текст : электронный / М. В. Аралова // **Вестник новых медицинских технологий.** – 2013. – Т. 20, № 2. – С. 25–27.

11. **Аралова, М. В.** Образ жизни и физические упражнения как профилактика трофических язв нижних конечностей. – Текст : непосредственный / М. В. Аралова // **Культура физическая и здоровье.** – 2013. – № 2. – С. 28–31.

12. Глухов, А. А. Оценка эффективности раневых покрытий URGO для местного лечения трофических язв венозной этиологии. – Текст : непосредственный / А. А. Глухов, **М. В. Аралова** // **Системный анализ и управление в биомедицинских системах.** – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 801–804.

13. **Аралова, М. В.** Клинический случай лечения пациентки с язвой Марторелла. – Текст : непосредственный / М. В. Аралова, А. А. Глухов // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2014. – Т. 7, № 3. – С. 265–268.

14. **Аралова, М. В.** Общая и местная криотерапия в комплексном лечении ран. – Текст : электронный / М. В. Аралова, А. А. Глухов // **Вестник новых медицинских технологий.** – 2015. – Т. 22, № 2. – С. 111–115.

15. **Аралова, М. В.** Контактная контролируемая криодеструкция в лечении больных с трофическими язвами. – Текст : электронный / М. В. Аралова, А. А. Глухов // **Вестник новых медицинских технологий.** – 2015. – № 2. – С. 2–10.

16. **Аралова, М. В.** Распространенность венозных трофических язв нижних конечностей у жителей Воронежской области. – Текст : непосредственный / М. В. Аралова, А. П. Остроушко // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2015. – Т. 8, № 2. – С. 248–251.

17. **Аралова, М. В.** Клинический случай трофической язвы на фоне меланомы кожи. – Текст : непосредственный / М. В. Аралова, А. А. Глухов, В. В. Лазебный // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2015. – Т. 8, № 4. – С. 378–381.

18. **Аралова, М. В.** Оценка эффективности применения комбинации концентрированной суспензии тромбоцитов и нативного нереконструированного коллагена для местного лечения трофических язв малых и средних размеров. – Текст : непосредственный / М. В. Аралова, А. А. Глухов // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2016. – Т. 9, № 4. – С. 275–280.

19. Иммуно-биологическое обоснование применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы для регионального лечения ран. – Текст : непосредственный / Н. Н. Коротких, **М. В. Аралова**, А. П. Остроушко, В. В. Шипилова // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2017. – Т. 10, № 2. – С. 111–115.

20. **Аралова, М. В.** Клинический случай лечения трофической язвы голени у пациентки с болезнью Шегрена (клиническое наблюдение). – Текст : непосредственный / М. В. Аралова, А. А. Глухов // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2017. – Т. 10, № 4. – С. 315–319.

21. Тучные клетки как активный компонент процесса репарации ран / **М. В. Аралова**, Д. А. Атякшин, А. А. Глухов [и др.]. – Текст : непосредственный // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 103–109. – (Соавт.: А. А. Андреев, А. О. Чуян, А. Р. Карапатьян).

22. **Аралова, М. В.** Кинетика раневого процесса при различных методах стимуляции регенерации в ранах. – Текст : непосредственный / М. В. Аралова, А. А. Глухов, А. П. Остроушко // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2018. – Т. 11, № 3. – С. 173–178.

23. Атякшин, Д. А. Молекулярно-биологические особенности секретома тучных клеток кожи нижних конечностей при формировании трофических язв различной этиологии / Д. А. Атякшин, **М. В. Аралова**, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // **Журнал анатомии и гистопатологии.** – 2019. – Т. 8, № 1. – С. 14–24.

24. Применение обогащенной тромбоцитами плазмы в эксперименте / **М. В. Аралова**, Л. Н. Антакова, Ю. Н. Алимкина [и др.]. – Текст : непосредственный // **Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.** – 2019. – № 2. – С. 72–79. – (Соавт.: А. А. Глухов, В. С. Бордачева).

25. **Аралова, М. В.** Опыт применения современных раневых покрытий у пациентов с трофическими язвами нижних конечностей / М. В. Аралова. –

Текст : непосредственный // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2012. – С. 10–11. – (Содерж. журн.: материалы межрегион. науч.-практ. конф. : Актуальные вопросы хирургии. – Воронеж, 2012).

26. Глухов, А. А. Профилактика трофических язв нижних конечностей / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**. – Текст : непосредственный // Неинфекционные заболевания и здоровье населения России : материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Москва, 2014. – С. 102–103.

27. **Аралова, М. В.** Актуальность проблемы профилактики, лечения и организации помощи пациентам с трофическими язвами нижних конечностей / М. В. Аралова, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // Многопрофильный стационар. – 2014. – Т. 1, № 1. – С. 80–81.

28. **Аралова, М. В.** Опыт использования отрицательно заряженных микросфер в лечении пациентов с венозными трофическими язвами голени / М. В. Аралова, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // Актуальные вопросы организации оказания первичной медико-санитарной и специализированной медицинской помощи в многопрофильном стационаре : материалы 10-й науч.-практ. конф., посвященной 25-летию БУЗ ВО ВГКБСМП № 10. – Воронеж, 2014. – С. 135–137.

29. **Аралова, М. В.** Сравнительный анализ микробного спектра трофических язв нижних конечностей / М. В. Аралова, А. А. Глухов, Ю. Н. Алимкина. – Текст : непосредственный // Актуальные вопросы хирургической инфекции – особенности лечения трофических язв : сб. тез. науч.-практ. конф. – Санкт-Петербург, 2015. – С. 3–4.

30. Антибиотикорезистентность основных возбудителей гнойной инфекции у больных с трофическими язвами стопы на фоне сахарного диабета / А. И. Жданов, Ю. А. Пархисенко, Ю. Н. Алимкина, **М. В. Аралова**. – Текст : непосредственный // Актуальные вопросы хирургической инфекции – особенности лечения трофических язв : сб. тез. науч.-практ. конф. – Санкт-Петербург, 2015. – С. 10–11.

31. Минаков, О. Е. Опыт работы центра амбулаторной хирургии в многопрофильном стационаре / О. Е. Минаков, **М. В. Аралова**, Е. Ф. Кокин. – Текст : непосредственный // Местное и медикаментозное лечение ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Сочи, 2015. – С. 177–178.

32. **Аралова, М. В.** Опыт применения препаратов коллагена в лечении трофических язв нижних конечностей / М. В. Аралова, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // Местное и медикаментозное лечение ран и гнойно-некротических очагов у детей и взрослых : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Сочи, 2015. – С. 12–14.

33. **Аралова, М. В.** Преимущество и последовательность в лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей / М. В. Аралова, В. В. Лазебный. – Текст : непосредственный // От функциональной разобщенности к разумной интеграции. Преимущество и взаимодействие при оказании амбулаторно-поликлинической и стационарной медицинской помощи : материалы конф. – Курск, 2015. – С. 88–89.

34. **Аралова, М. В.** Распространенность и структура трофических язв нижних конечностей / М. В. Аралова. – Текст : непосредственный // Неинфекционные заболевания и здоровье населения России : материалы Всерос. науч.-практ. конф. – Москва, 2015. – С. 11–12.

35. **Аралова, М. В.** Комбинация биоматериала «Коллост» и аутодермопластики в комплексном лечении венозных трофических язв нижних конечностей / М. В. Аралова, А. П. Остроушко, Ю. Н. Алимкина. – Текст : непосредственный // Альманах института хирургии им. А. В. Вишневского. – 2015. – С. 1378–1379. – (Содерж. журн.: тез. XII съезда хирургов России. – Ростов-на-Дону, 2015).

36. Жданов, А. И. Применение биопластического материала «Коллост» у больных с синдромом диабетической стопы / А. И. Жданов, Ю. Н. Алимкина, **М. В. Аралова**. – Текст : непосредственный // Альманах института хирургии им. А. В. Вишневского. – 2015. – С. 1380–1381. – (Содерж. журн.: тез. XII съезда хирургов России. – Ростов-на-Дону, 2015).

37. Глухов, А. А. Особенности применения антибактериальных препаратов у пациентов с трофическими язвами нижних конечностей / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**, О. И. Денисова. – Текст : непосредственный // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2016. – № 4. – С. 22–25.

38. Глухов, А. А. Дебридмент трофических язв с помощью контактной контролируемой криодеструкции / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**, А. П. Остроушко. – Текст : непосредственный // Воронежская областная клиническая больница № 1 – центр специализированной и высокотехнологич-

ной медицинской помощи : сб. ст., посвященный 40-летию открытия нового комплекса БУЗ ВО ВОКБ № 1. – Воронеж, 2016. – С. 25–27.

39. Способ местного лечения трофических язв у больных с синдромом диабетической стопы / А. И. Жданов, Ю. А. Пархисенко, Ю. Н. Алимкина, **М. В. Аралова**. – Текст : непосредственный // Актуальные вопросы диагностики, лечения и профилактики синдрома диабетической стопы : тез. докл. VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участ. / под ред. К. А. Корейба ; Рос. общ-во хирургов ; Казан. гос. мед. ун-т ; М-во здравоохранения РФ ; Управление здравоохранения г. Казани ; Центр «Диабетическая стопа» г. Казани. – Казань : АртПечатьСервис, 2016. – С. 8–10.

40. Глухов, А. А. Метод контактной контролируемой криодеструкции с гидропрессивной некрэктомией трофических язв нижних конечностей у больных посттромбофлебитической болезнью / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**, Ю. Н. Алимкина. – Текст : непосредственный // Раны и раневые инфекции : материалы 3-го Междунар. конгресса. – Москва, 2016. – С. 77–78.

41. **Аралова, М. В.** Местное лечение венозных трофических язв / М. В. Аралова, А. А. Глухов, Н. Н. Коротких, Ю. Н. Алимкина. – Текст : непосредственный // Альманах института хирургии им. А. В. Вишневского. – 2017. – № 2. – С. 378–379. – (Содерж. журн.: тез. Первого съезда хирургов Центрального федерального округа. – Рязань, 2017).

42. **Аралова, М. В.** Выбор режима криовоздействия в лечении больных с нейротрофическими язвами / М. В. Аралова, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // Многопрофильный стационар. – 2017. – Т. 4, № 1. – С. 26–31.

43. Жданов, А. И. Применение метода эндолимфатической озонотерапии у больных с трофическими язвами стоп на фоне сахарного диабета / А. И. Жданов, Ю. Н. Алимкина, **М. В. Аралова**. – Текст : непосредственный // Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 140-летию проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого. – Симферополь, 2017. – С. 87–88.

44. Глухов, А. А. Оценка эффективности различных способов очистки раневой поверхности венозных трофических язв / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**, Ю. Н. Алимкина. – Текст : непосредственный // Хирургические инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых: материалы

Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 140-летию проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого. – Симферополь, 2017. – С. 63–64.

45. **Аралова, М. В.** Бактериологическое исследование трофических язв нижних конечностей / М. В. Аралова, В. С. Бордачева, А. А. Манченко. – Текст : непосредственный // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. – 2018. – № 71. – С. 130–135.

46. **Аралова, М. В.** Популяция тучных клеток кожи пациентов с трофическими язвами различной этиологии: диагностические и терапевтические аспекты / М. В. Аралова, Д. А. Атякшин, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // Постгеномные технологии: от теории к практике : материалы IV Междунар. науч. конф., 2–3 окт. – Воронеж, 2018. – С. 74–76.

47. **Aralova, M.** The problem of treatment of venous trophic ulcers and the ways of its solution / M. Aralova, A. Glukhov. – Text : electronic // Surgery, gastroenterology and oncology: abstracts of Papers Submitted to the IASGO World Congress, September 9–12. – Moscow, Russia. – 2018. – Vol. 23, № 3. – P. 67.

48. **Аралова, М. В.** Эффективность применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы для местного лечения венозных трофических язв / М. В. Аралова, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // Раны и раневые инфекции : материалы 4-го Междунар. конгресса. – Москва, 2018. – С. 15–18.

49. **Аралова, М. В.** Меланома кожи как причина трофической язвы (клинический случай) / М. В. Аралова, А. А. Глухов. – Текст : непосредственный // Раны и раневые инфекции : материалы 4-го Междунар. конгресса. – Москва, 2018. – С. 13–15.

50. Глухов, А. А. Трофические язвы: современное состояние проблемы : монография / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**. – Воронеж : ООО «Элист», 2019. – 360 с. – Текст : непосредственный.

51. Глухов, А. А. Криометоды в лечении больных с трофическими язвами нижних конечностей: методические рекомендации / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**, Н. Н. Коротких. – Воронеж, 2018. – 43 с. – Текст : непосредственный.

52. Глухов, А. А. Обогащенная тромбоцитами плазма в лечении длительно незаживающих ран: методические рекомендации / А. А. Глухов, **М. В. Аралова**, Н. Н. Коротких. – Воронеж, 2018. – 47 с. – Текст : непосредственный.

53. Патент № 2578382 Российская Федерация, МПК А61В 18/02(2006.01), А61К 33/14(2006.01), А61Р 17/02(2006.01), А61F 13/36 (2006.01). Способ лечения больных с трофическими язвами : № 2014123010 ; заявл. 05.06.2014 ; опубл. 25.02.2016 / Глухов А. А., **Аралова М. В.** – Текст : непосредственный.

54. Патент № 2620498 Российская Федерация, МПК А61В 18/02(2006.01), А61М 1/00(2006.01), А61К 33/14(2006.01), А61Р 17/02(2006.01). Способ лечения больных с трофическими язвами : № 2016113996 ; заявл. 11.04.2016; опубл. 25.02.2017 / **Аралова М. В.**, Глухов А. А., Алимкина Ю. Н. – Текст : непосредственный.

55. Патент № 2657806 Российская Федерация, МПК А61К 35/16(2015.01), А61К 38/39(2006.01), А61Р 17/02(2006.01). Способ регионального лечения трофической язвы : № 2016143250 ; заявл. 02.11.2016; опубл. 15.06.2018 / **Аралова М. В.**, Глухов А. А., Алимкина Ю. Н. – Текст : непосредственный.

56. Патент на полезную модель № 189472 Российская Федерация, МПК А61В 18/02 (2006.01). Насадка для криоинструмента : № 2018143774 ; заявл. 10.12.2018 ; опубл. 23.05.2019 / **Аралова М. В.**, Алимкина Ю. Н. – Текст : непосредственный.

57. Прогнозирование результатов применения персонализированной технологии местного лечения трофических язв различной этиологии / **Аралова М. В.** : свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018619546 от 08.08.2018.

58. Клинико-лабораторные характеристики раневой поверхности трофических язв нижних конечностей / **Аралова М. В.** : свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019620260 от 06.03.2019.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

НТЯ – нейротрофические язвы

ОТДП – обогащенная тромбоцитами донорская плазма

ОТП – обогащенная тромбоцитами плазма

ПК – препараты коллагена

ТК – тучные клетки

ХАН – хроническая артериальная недостаточность

ХВН – хроническая венозная недостаточность