

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы

На правах рукописи

Чеснаков Алексей Николаевич

**Патогенетическое лечение пациентов
с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей методом
аутотрансплантации жировой ткани в фазе регенерации раневого процесса
(экспериментально-клиническое исследование)**

3.1.9. Хирургия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
член-корреспондент РАН, профессор
Павел Евгеньевич Крайнюков

Москва - 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ЛЕЧЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	14
1.1. Анатомо-физиологические особенности конечностей, оказывающие влияние на патогенез хирургических инфекций	14
1.2. Особенности патогенеза хирургической инфекции при минно-взрывных ранениях конечностей	20
1.3 Роль ангиогенеза на этапе реконвалесценции при хирургических инфекциях конечностей.....	25
ГЛАВА 2. ОРГАНИЗАЦИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1 Экспериментальная часть	40
2.1.1. Общая характеристика экспериментального исследования.....	40
2.1.2 Гистологические методы исследований (в эксперименте).....	42
2.2 Организация клинического исследования	48
2.2.1. Характеристика клинических наблюдений	49
2.2.2. Техника получения СВФ	54
2.2.3. Характеристика методов исследования.....	55
2.2.4. Методика оценки болевого синдрома.....	55
2.2.5. Лабораторные методы исследований.....	55
2.2.6. Инструментальные методы исследования.....	57
2.2.7. Оценка качества жизни	59
2.2.8. Микробиологическое исследование	59
2.2.9. Функциональные исследования	60
2.3. Статистические методы обработки данных.....	62

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ СТРОМАЛЬНО–ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ В СТАДИИ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ	64
3.1 Схема экспериментального исследования	64
3.2. Моделирование первично-инфицированного открытого повреждения пяточного сухожилия	65
3.3. Критерии оценки эффективности лечения открытого инфицированного повреждения пяточного сухожилия у экспериментальных животных	66
3.4. Оценка результатов трансфекции	67
3.5. Модель первичной инфицированной раны, 3-и сутки после дозированного механического повреждения пяточного сухожилия	67
3.6 Гистологическое исследование	70
3.6.1. 15-е сутки после первичного инфицированного открытого дозированного механического повреждения	70
3.6.2. 30-е сутки после дозированного механического повреждения.....	72
3.6.3. 60-е сутки после дозированного механического повреждения.....	74
ГЛАВА 4. МЕТОДИКА ПРИМЕНЕНИЯ СТРОМАЛЬНО–ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ.....	80
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ.....	91
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	127
ВЫВОДЫ	136
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	137
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	138

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ИМТ – индекс массы тела

ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации

ММСК – мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки

МСК-КМ – мезенхимальные стволовые клетки костного мозга

СВФ-ЖТ – стромально-васкулярная фракция жировой ткани

СРБ – С-реактивный белок

BP (bodily pain) – физическая боль (компонент опросника SF-36)

GFP (англ. Green Fluorescents Protein - зелёный флуоресцентный белок) – маркерный белок.

GH (general Health) – общее состояние здоровья (компонент опросника SF-36)

MH (mental Health) – психическое здоровье (компонент опросника SF-36)

PF (physical Functioning) – физическое функционирование (компонент опросника SF-36)

RE (role – Emotional) – ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (компонент опросника SF-36)

RP (role – Physical Functioning) – ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (компонент опросника SF-36)

SF (social Functioning) – социальное функционирование (компонент опросника SF-36)

VEGF – (англ. Vascular endothelial growth factor - сосудистый эндотелиальный фактор роста) – фактор роста эндотелия сосудов

VT (vitality) - жизненная активность (компонент опросника SF-36)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

Хирургическая инфекция мягких тканей различной локализации – основная патология в структуре первичной обращаемости хирургических больных, занимающая ведущее место, как по частоте развития, так и по возможным осложнениям. Ежегодно в поликлиниках Российской Федерации проходят обследование и лечение более 2 млн больных гнойно–воспалительными заболеваниями, трудопотери от которых составляют свыше 15 млн рабочих дней в год [15].

По данным зарубежных исследований, частота хирургических инфекций мягких тканей (послеоперационные нагноения, постинъекционные осложнения и т. д.) достигает 36% в структуре нозокомиальных инфекций, в России – 24% [15; 144]), а в структуре первичной обращаемости к хирургу поликлиники – 70% [145].

В мире хирургические инфекции мягких тканей являются причиной более 1 млн госпитализаций в год [18; 29; 71; 125; 135].

Пациенты с гнойным поражением мягких тканей конечностей составляют в структуре специализированных стационаров 35–40% всех пациентов, поступивших с гнойной патологией [3; 14; 88]. При этом от 60 до 75% больных находятся в трудоспособном возрасте [3; 15; 18; 66; 75; 155; 156].

Из литературных источников известно, что в структуре входящего потока в стационары гнойной хирургии от 25 до 40% пациентов имеют осложненные формы флегмон мягких тканей в виде развившегося острого внутритканевого гипертензионного синдрома [79; 149].

Лечение гнойных ран считается одной из основных проблем мирового здравоохранения из-за их высокой частоты и стоимости лечения [218]. Зарубежные авторы Sharma R., Von Keudell A. G. указывают на губительное влияние длительного существования гнойного очага в подфасциальных пространствах, обуславливающего создание повышенного внутритканевого давления (компаратмент-синдром), которое приводит к нейроишемическим

нарушениям [221; 224; 253; 265; 272].

Среди наиболее частых послеоперационных осложнений в отдаленном периоде в 20% случаев регистрируются гипертрофические рубцы и миофасциальный болевой синдром [79; 171; 179; 230; 232; 258]. В этой когорте пациентов в 50–60% случаев формируются грубые рубцы после хирургического лечения абсцессов и флегмон лица, шеи и кисти [4; 8; 89; 110; 139].

В настоящее время, в тактике ведения больных с гнойной патологией мягких тканей, включая заболевания конечностей, нет единого подхода к вопросам профилактики и лечения чрезмерного образования рубцовой ткани. Данную терапию необходимо начинать в раннем послеоперационном периоде с целью скорейшего достижения контрольной точки (сроки наступления 2-й фазы раневого процесса (по М.И. Кузину)), позволяющей выполнить по показаниям пластическое закрытие ран и/или применить клеточные технологии для ускорения регенеративных процессов в послеоперационной ране с целью формирования нормотрофического рубца [15; 62; 95; 131; 150]. Основные составляющие данной терапии должны определяться локализацией патологического процесса, глубиной повреждения тканей, состоянием фазы регенерации раны при ее заживлении [18; 72; 76; 79; 146].

В 93% случаев хирургическая инфекция конечностей сопровождается повышением тканевого давления [76; 78]. Увеличение данного показателя на 25 мм рт. ст. приводит к формированию острого тканевого гипертензионного синдрома, [2; 79; 169]. Длительное незаживление ран встречается в 4–6% случаев [21; 32; 81]. Формирование патологических рубцов и миофасциального болевого синдрома регистрируется в послеоперационном периоде в 10% случаев [1; 123]. Вышеперечисленные синдромы влекут за собой развитие рубцовой контрактуры, зуда и хронического болевого синдрома в области келоидного рубца в 20% случаев [9; 77; 146; 147; 179; 209; 231; 232; 252; 258; 265].

Исследование данных научной литературы осуществлялось с помощью запросов в поисковых системах «eLibrary», «PubMed», «Medline» по темам: гнойные раны, хирургические инфекции, острый внутритканевой

гипертензионный синдром, раневой процесс и включало как отечественные, так и зарубежные источники [2; 111; 169; 172; 182; 192; 240; 246; 250; 255; 260; 265; 266; 275]. Были изучены современные подходы к лечению гнойных ран, исторические аспекты формирования современных методов лечения инфекций мягких тканей, их особенности, достоинства и недостатки, анатомо-физиологические особенности конечностей, влияющие на патогенез хирургической инфекции [51; 114; 119; 124; 131; 147; 182; 187; 217; 240; 245; 247; 255]. Дана характеристика перспективному способу лечения раневых дефектов с использованием клеточных технологий [10; 11; 16; 19; 41; 47; 61; 68; 137].

Вместе с тем, данных, касающихся обоснования комбинированной лечебной тактики с применением клеточных технологий у пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей с целью ускорения регенерации и профилактики избыточного рубцеобразования мы не обнаружили.

Таким образом, проблема поиска новых современных методов лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей на стадии гранулирующей раны с целью стимуляции процессов неоангиогенеза и эпителизации в послеоперационной ране, формирования нормотрофического рубца, профилактики миофасциального синдрома сохраняет свою актуальность для современной медицины и играет большое социальное значение. Однако применение данного варианта клеточной терапии в клинической практике на сегодняшний день ограничено действующим законодательством. В связи с этим, разработка и экспериментальное обоснование возможности применения мультипотентных мезенхимальных клеток (ММСК) из стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ) с целью активизации ангиогенеза являются актуальными научными задачами. В свою очередь, одним из перспективных направлений развития регенераторной медицины, разрешенным к клиническому применению, представляется использование аутологичной СВФ-ЖТ. Она является наиболее доступным источником клеточного материала [179; 202; 227], ее получение безопасно для пациента и не требует применения дорогостоящего оборудования [86; 109].

Цель исследования

Научно обосновать целесообразность сочетанного применения хирургических методов и клеточных технологий для улучшения исходов лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей.

Задачи исследования

1. Разработать экспериментальную модель для исследования процесса заживления первично-инфицированных открытых повреждений мягких тканей конечностей.

2. Провести патоморфологические исследования процесса заживления первично-инфицированных открытых повреждений мягких тканей конечностей в эксперименте.

3. Оценить в эксперименте эффективность применения клеточных технологий (аллогенной стромально–васкулярной фракции жировой ткани и мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, культивированных из нее) в процессе лечения первично-инфицированных открытых повреждений мягких тканей конечностей.

4. Сравнить результаты лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей, которым проведено оперативное лечение по традиционной методике, и получивших на этапе гранулирующей послеоперационной раны биоимплантацию стромально–васкулярной фракции жировой аутоканы по периметру послеоперационной раны.

5. Научно обосновать целесообразность применения стромально–васкулярной фракции жировой аутоканы в комплексном лечении пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей.

Научная новизна исследования

1. Разработана оригинальная экспериментальная модель первично-инфицированного открытого повреждения мягких тканей конечностей для исследования процесса его заживления после трансплантации мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток.

2. Подтверждено в эксперименте, что мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, полученные из стромально-васкулярной фракции экспериментального животного, содержат набор ангиогенных и ростковых факторов, и, будучи недифференцированными, обладают высокой способностью к пролиферации в условиях *in vivo* и дифференцировке в любые клетки других тканей.

3. Получены новые сведения об особенностях восстановления ткани пяточного сухожилия в условиях аллотрансплантации мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в зону дефекта. Впервые смоделирован и применен в эксперименте способ создания первично-инфицированного открытого повреждения мягких тканей нижней конечности у крысы с целью формирования патологического процесса – для его дальнейшего изучения и разработки методов комплексного лечения (патент РФ на изобретение № 2779405, опубл. 06.09.2022 г., бюл. №25).

Практическая значимость работы

1. Внедрение в практику усовершенствованного алгоритма диагностики и комплексного лечения хирургических инфекций мягких тканей конечности позволило создать благоприятные условия для уменьшения сроков репарации тканей, снижения частоты формирования длительно незаживающих ран, уменьшения трудопотерь, проведения медико-социальной реабилитации пациентов и их возвращения к профессиональной деятельности.

2. Использование современных клеточных технологий демонстрирует перспективное направление их применения в лечении пациентов с хирургическими инфекциями мягких тканей конечностей на стадии

послеоперационной гранулирующей раны, положительно влияет на процесс эпителизации и рубцевания раны, снижает частоту формирования миофасциального болевого синдрома и гипертрофических рубцов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Клиническое применение стромально-васкулярной фракции жировой аутоклони на этапе регенерации создает благоприятные условия для эпителизации и рубцевания, ингибирует избыточную пролиферативную реакцию в зоне раны, способствует уменьшению болевого синдрома и, в итоге, имеет преимущество перед традиционным методом ведения ран конечностей.

2. Разработанная экспериментальная методика для исследования процесса заживления первично-инфицированных открытых повреждений мягких тканей конечностей является патогенетически обоснованной, простой и удобной для воспроизведения.

3. Применение клеточных технологий на основе биологически активных материалов в эксперименте *in vivo* (СВФ и ММСК, культивированных из них) показывает их непосредственное участие в улучшении посттравматического репаративного процесса.

4. Введение биологически активных материалов в зону первично-инфицированного открытого повреждения мягких тканей конечностей более активно запускает механизмы неоангиогенеза, что способствует эффективному участию в регенерации области повреждения мягких тканей.

Апробация результатов

Материалы диссертации доложены и обсуждены на: Всероссийской научно–практической конференции с международным участием «Травматология, ортопедия и восстановительная медицина Дальнего Востока: достижения, проблемы, перспективы», VI Пироговском форуме травматологов–ортопедов, посвященном 50-летию кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф МГМСУ имени А.И. Евдокимова» (г. Москва, 2021г.); VI Съезде травматологов-ортопедов Дальневосточного федерального округа (Чита, 2021); VII съезде амбулаторных хирургов Российской Федерации (Ставрополь, 2021); XIII съезде хирургов России Российского общества хирургов (Москва, 2021); VII–ом съезде Пироговского форума травматологов–ортопедов (Махачкала, 2022г.); III конгрессе Ортобиология 2022 «От исследования к клинической практике» (Москва, 2022); III международном научно-практическом форуме «Огнестрельная рана. Хирургия повреждений» (Москва, 2024г.); научно-практической конференции с международным участием «Хирургическая инфекция и сепсис - 2024» (Московская область, г. Красногорск, пос. Новый); IV Международный научно-практический форум «Огнестрельная рана. Хирургия повреждений» (Москва, 2025г).

Внедрение в практику

Результаты работы внедрены в клиническую деятельность Федерального казенного учреждения «Центральный военный клинический госпиталь имени П.В. Мандрыка» Министерства обороны Российской Федерации (г. Москва), в учебный процесс на кафедре госпитальной хирургии с курсом детской хирургии медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (г. Москва).

Личное участие автора в проведенном исследовании

Автор самостоятельно разработал дизайн, сформулировал цель и задачи

исследования, определил частные методики исследования. Собрал и обобщил статистический материал, сгруппировав его в таблицы и рисунки. Лично участвовал в проведении экспериментальной части исследования, для чего разработал экспериментальную модель открытого повреждения мягких тканей конечностей. Принял непосредственное участие в 70% операций пациентов с хирургической инфекции мягких тканей конечностей. Оценил эффективность применения стромально-васкулярной фракции в комплексном лечении пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей. Оценил ближайшие результаты комплексного лечения этой категории пациентов. Провел статистическую обработку полученных данных, сформулировал выводы и практические рекомендации. Автору принадлежит определяющая роль в апробации и внедрении результатов, в научных публикациях.

Полнота опубликования в печати

По материалам исследования были опубликованы 6 печатных работ, включая 4 работы в рецензируемых периодических изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки России. Оформлен 1 патент РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 165 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы (280 работ), включающего 171 отечественных и 109 зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 67 рисунками и 7 таблицами.

Учитывая проведение экспериментальной части исследовательской работы (на крысах) на базе НИО (медико-биологических исследований) с привлечением специалистов НИО (экспериментальной медицины) научно-исследовательского

центра «Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова» Минобороны России и кафедры патологической анатомии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург), автор выражает глубокую благодарность коллегам за участие в исследовании и оказанную помощь.

ГЛАВА 1. ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОДХОДА К ЛЕЧЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Анатомо-физиологические особенности конечностей, оказывающие влияние на патогенез хирургических инфекций

В результате длительной эволюции и адаптации к прямохождению верхние конечности человека утратили опорную функцию и приобрели специализацию органа манипуляции и тактильного восприятия. Движения верхней конечности, в особенности её дистального отдела – кисти, отличаются высокой степенью точности, быстроты и координации [66; 71; 75]. Кисть человека является уникальным органом, выполняющим широкий спектр сложных функций [28; 34; 63; 75; 124]. Высокая частота хирургических инфекций в области кисти обусловлена её постоянным использованием в трудовой деятельности и, как следствие, повышенной подверженностью травматизации. Развитию инфекционных процессов в пальцах кисти способствуют как общие факторы (гиповитаминозы, заболевания эндокринной системы), так и локальные: высокая микробная обсемененность кожи, повторяющееся воздействие агрессивных химических веществ, влажной среды, локальной гипотермии и вибрации, приводящих к нарушениям микроциркуляции, местного иммунитета и метаболизма [29; 34; 118; 124; 125; 144; 163].

Несмотря на то, что кисть составляет примерно 2% всей площади поверхности тела человека и всего 1% его массы, в сравнении с другими частями тела она является наиболее активным участником различных видов деятельности, что обуславливает повышенный риск травматизации. Около 40% всех травм опорно-двигательного аппарата представлены различными повреждениями верхних конечностей, а 60% из них это травмы кисти. Таким образом, каждое четвертое из всех повреждений локализуется в области кисти. Гнойно-воспалительные поражения кисти характеризуются агрессивным течением,

ежегодно регистрируются у 0,5% населения планеты и составляют от 15 до 30% в структуре амбулаторной хирургической патологии [154; 163].

Хирургические инфекции мягких тканей верхней конечности, за исключением пальцев кисти, включают такие нозологические формы, как поддельтовидная флегмона, глубокая флегмона плеча, локтевой ямки, переднего и заднего фасциальных лож предплечья, пространства Пирогова. Данные патологические состояния обычно носят вторичный характер и являются следствием прогрессирования инфекции костей и суставов верхней конечности, гнойного поражения лимфатических узлов подмышечной области или осложнений травм и огнестрельных ранений [50].

Нижние конечности, как органы опоры и движения, характеризуются развитым мышечным, связочным и костным аппаратом. Форма конечности во многом определяется полом, возрастом, функциональной нагрузкой и индивидуальными особенностями строения тканей. Визуальные очертания нижних конечностей у женщин и мужчин различаются, что обусловлено степенью развития подкожной жировой клетчатки, мышечной массы и размерами костей. У женщин, как правило, лучше выражена подкожная жировая клетчатка, особенно в ягодичной области и на бёдрах, что придаёт этим сегментам увеличенный объём и округлую форму [24].

Хирургические инфекции нижних конечностей (флегмоны) могут возникать как первичный процесс или развиваться в качестве осложнения гнойного артрита крупных суставов, остеомиелита костей, воспалительной патологии органов малого таза, восходящего гнойного тромбофлебита, формируя, как правило, глубокие межмышечные флегмоны [15].

В развитии хирургии конечностей необходимо отметить вклад выдающегося хирурга, анатома, естествоиспытателя и педагога, создателя первого атласа топографической анатомии, основоположника военно-полевой хирургии, основателя отечественной школы анестезии Николая Ивановича Пирогова (1810–1881). Он заложил основы анатомо-физиологического подхода, берегательного отношения к раненому в конечности и практического лечения

гнойных ран, целью которых считал предотвращение возникновения и развития раневой инфекции [103]. Н.И. Пирогов полагал, что ведущими этиологическими факторами возникновения хирургической инфекции в ране выступают взаимодействие раневой поверхности с контаминированными объектами внешней среды, а также пренебрежение медицинскими работниками правилами личной гигиены [115]. Им предложен целый ряд инновационных для того времени и актуальных по сей день принципов: способ профилактики раневой инфекции путем обработки пораженных участков кожи спиртосодержащими растворами; обязательное проведение пальцевого исследования содержимого раневых полостей и удаление инородных тел; иммобилизация конечности гипсом; наложение швов после заполнения раневой полости грануляционной тканью [3; 88; 144; 151].

В ходе проведенных Н.И. Пироговым анатомических исследований конечностей определены структуры, которые могут как препятствовать распространению хирургической инфекции вглубь мягких тканей, так и создавать условия для скопления гнойных масс в «замкнутом» пространстве, приводя к повышению внутритканевого давления (компаратмент–синдром), которое способствует быстрому некротизированию клетчатки с переходом воспаления на сухожильные влагалища [75]. В своём фундаментальном труде «Хирургическая анатомия артериальных стволов и фасций» Н.И. Пирогов подробно охарактеризовал значение синовиальных влагалищ и фасций. Он описал их как герметичные футляры, окружающие мышечные группы и сосудисто-нервные пучки, которые играют ключевую роль в распространении гнойных процессов. Это понимание позволило объяснить механизмы не только локального распространения инфекции вглубь тканей, но и её миграции в проксимальные отделы конечности, а также раскрыть причины генерализации инфекционного процесса [83; 134; 135].

На основе анатомо-физиологических исследований Н.И. Пироговым сформулированы 4 закона анатомических взаимоотношений фасций и сосудисто-нервных пучков. Первый закон определяет основное положение фасциально-

футлярного строения конечностей и заключается в том, что фасциальные сосудистые влагалища исходят из фасций мышц, окружающих на протяжении сосудисто-нервный пучок, задняя стенка мышечного фасциального футляра одновременно является передней стенкой фасциального влагалища, в котором располагается сосудисто-нервный пучок. Остальные три закона логически вытекают из положений первого и относятся к форме фасциального сосудистого влагалища; взаимоотношению сосудистого влагалища с глубокими слоями анатомического сегмента конечности; особенностям строения фасциального сосудистого влагалища на всем протяжении анатомического сегмента конечности [28; 114].

Описанное Н.И. Пироговым, представление о футлярном строении конечностей определяет типичные локализации и пути распространения гнойных процессов, посттравматических кровоизлияний, а также лежит в основе методики футлярной анестезии.

Последующее развитие концепции Н.И. Пирогова о взаимосвязи сосудистых структур и фасций способствовало формулировке принципа футлярной организации конечностей. Согласно этому принципу, каждый сегмент конечности (например, плечо, предплечье, бедро, голень) представляет собой комплекс фасциальных футляров, упорядоченно расположенных вокруг одной или нескольких костей. При этом количество таких фасциальных образований существенно варьирует на протяжении конечности, а их архитектура демонстрирует выраженные различия на различных уровнях одного анатомического сегмента; так в проксимальном отделе предплечья выделяют от 7 до 8 фасциальных футляров, а в дистальном уже 14 [87].

На основании сформулированного Н.И. Пироговым анатомо-топографического принципа выдающимся отечественным хирургом, блестящим ученым В.Ф. Войно-Ясенецким издана уникальная монография «Очерки гнойной хирургии», впервые опубликованная в 1934 г. и на многие десятилетия ставшая настольной книгой врачей хирургического профиля [157]. Этот классический фундаментальный труд охватывает все аспекты хирургической инфекции,

практически все отрасли хирургии, включая нейрохирургию, офтальмологию, оториноларингологию, онкологию, челюстно-лицевую, торакальную и абдоминальную хирургию, а также гинекологию и ортопедию [24; 164; 170].

В. Ф. Войно-Ясенецкий разработал научную топографо-анатомическую концепцию хирургического метода лечения [24]. Профессор П.А. Куприянов и профессор А. Н. Бакулев в предисловии к уже третьему изданию работы 1956 года писали: «До выхода в свет труда В. Ф. Войно-Ясенецкого, пожалуй, никому не удалось провести с такой последовательностью анатомо-топографический принцип в изучении нагноительных процессов, т.е. тот принцип, который был впервые выдвинут великим Н. И. Пироговым» [28].

В монографии «Очерки гнойной хирургии» В.Ф. Войно-Ясенецкий доказывает практикой, что «ключом» к успешной операции является знание расположения фасций, мышечно-фасциальных футляров и синовиальных влагалищ сосудисто-нервных пучков, межфасциальных клетчаточных пространств и их взаимоотношений [24].

Научно-практическая деятельность Н.И. Пирогова и В.Ф. Войно-Ясенецкого доказала абсолютную практическую топографо-анатомическую значимость фасций и клетчаточных пространств, которая состоит в следующем:

- в межфасциальных клетчаточных пространствах происходит скопление патологических жидкостей и газов: экссудата, гематомы, мочевых затеков, а также воздуха;

- низкая устойчивость клетчатки к развитию хирургической инфекции способствует быстрому прогрессированию нагноения из одного межфасциального клетчаточного пространства в соседнее, через естественные подфасциальные щели [24];

- фасциальные влагалища сосудисто-нервных пучков служат проводящим путём для распространения хирургической инфекции из одной анатомической области в другую, иногда на значительном удалении от первичного гнойного очага. Распространение инфекции также возможно через зоны пониженной резистентности фасциальных оболочек [217].

Распространение гноя из первичного очага в соседние области происходит двумя путями: первичным (по протяжению фасциального футляра) и вторичным (прорывая стенку футляра) [30; 34]:

Первичный путь распространения не нуждается в деструкции основных анатомических структур. Процесс происходит путём постепенного расплавления рыхлой соединительной (клетчаточной) ткани. Направление распространения определяется ходом фасций, которые обладают высокой устойчивостью к гнойному расплавлению. Таким образом, фасции выполняют роль направляющих, вдоль которых гной (гнойный затек) распространяется по межмышечным клетчаточным пространствам и фасциальным влагалищам. Данный механизм называется распространением «по протяжению», при котором происходит последовательное вовлечение в патологический процесс непосредственно прилегающих тканей [24].

Вторичные пути связаны с разрушением анатомических барьеров. Они характеризуются прорывом гноя через стенки относительно замкнутых фасциальных футляров или межмышечных перегородок в соседние пространства, что происходит по принципу нахождения «слабого места» в анатомической преграде.

Благодаря топографо-анатомическим исследованиям Н.И. Пирогова, В.Ф. Войно-Ясенецкого, П.Н. Жерди (1797-1858), Джозефа Э. Милграма (1895-1989), В.В. Кованова (1909-1994) определены топографо-анатомические особенности вторичного пути распространения хирургической инфекции, обусловленные наличием зон пониженной резистентности (*locus minoris resistentiae*) капсул суставов, мышечных футляров и фасциальных пластинок, которые обычно располагаются на задних поверхностях фасциальных футляров [35; 64; 95; 120]. Так, в месте соединения влагалища сосудисто-нервного пучка со стенкой мышечного футляра наблюдается ослабление структуры фасции в виде её разрыхления, что снижает её механическую прочность. Кроме того, через естественные отверстия в этой же задней стенке проходят сосудистые и нервные ветви, кровоснабжающие и иннервирующие мышцы [24; 55; 99].

Слабые места капсул суставов наблюдаются на тех участках стенки, где имеется тесное прилежание сухожилия, и в структуре стенки капсулы отмечается уменьшение фиброзных пучков, обуславливающие ее истончение.

Таким образом, изучение путей распространения гнойных затеков по фасциальным клетчаточным пространствам и синовиальным влагалищам сосудисто-нервных пучков позволяет своевременно выставить показания к хирургическому вмешательству с использованием правильных (широкая фасциотомия) тактических приемов [80].

В 50-е годы XX века учение Н.И. Пирогова и В.Ф. Войно-Ясенецкого было дополнено И.Д. Кирпатовским понятием о фасциальных узлах, имеющих связь с костной основой анатомической области, благодаря чему фасция выполняет не только ограничительную, но и опорную роль, способствуя тяге мышц и усиливая влагалища желез, сосудов и нервов, что упрощает лимфо- и кровоток. Разделяя фасциальные футляры между собой, фасциальные узлы существенно препятствуют распространению гнойного процесса [147].

1.2. Особенности патогенеза хирургической инфекции при минно-взрывных ранениях конечностей

Кардинальные изменения характеристик современного вооруженного конфликта, а именно: быстро меняющиеся условия ведения боя, насыщение противоборствующих сторон ствольной и реактивной артиллерией, управляемыми ракетами, минометами, гранатометами, активное применение воюющими сторонами новых средств ведения войны – высокоточного оружия, беспилотных летальных аппаратов и др., привели к изменению характера боевой травмы [7; 45]. Основными средствами поражения противника являются боеприпасы взрывного действия, осколки корпуса боеприпасов, возникающие в момент взрыва при его разрушении, готовые (полуготовые) поражающие элементы (из стали или вольфрамовых сплавов), имеющие форму шариков, кубиков или стреловидных фрагментов [12]. Характер морфологических повреждений при таких ранениях определяется

в значительной степени применением военнослужащими средств индивидуальной и коллективной бронезащиты.

Минно-взрывные повреждения формируются в результате применения различных видов обычных средств поражения, (осколочные и осколочно-фугасные артиллерийские снаряды, мины, ракеты, авиабомбы, ручные гранаты и т.д.) [93; 104; 129; 168].

Активация боеприпаса взрывного действия вызывает взрыв — экзотермическую химическую реакцию, при которой взрывчатое вещество переходит в газообразное состояние. Давление и температура образовавшихся взрывных газов достигают экстремальных значений 20–30 ГПа и десятки тысяч градусов соответственно. Часть энергии газов разрушает оболочку боеприпаса, и переходит в высокую кинетическую энергию осколков, их начальная скорость достигает 2000 м/с. Другая часть трансформируется в расширяющееся световое, тепловое и акустическое излучение. Оставшиеся до 40% энергии создают ударную волну. Она образуется за счет быстрого расширения взрывных газов и формирует фронт высокого давления, достигающего сотен кг/см². В эпицентре взрыва скорость его распространения достигает 3000–9000 м/с, являясь сверхзвуковой. Разрушая биологические ткани в фазе положительного давления, ударная волна сменяется фазой разрежения. Отрицательное давление, за счет вакуумного эффекта, затягивает в эпицентр воздух и окружающие обломки. Данный перепад давления обладает более значительным разрушительным потенциалом, чем фаза сжатия: стремительно расширяясь, продукты взрыва сжимают воздух, создавая взрывную волну. Её скорость не превышает 100 м/с, что значительно меньше скорости распространения ударной волны, однако ее действие более продолжительное и направлено во все стороны. Взрывная волна напрямую повреждает биологические ткани и осуществляет метательное воздействие на организм в целом [22].

Таким образом, при контакте с источником взрыва или находясь в непосредственной близости от него, основное повреждающее воздействие на пострадавшего оказывают многочисленные осколки и горячая волна взрывных

газов. По мере увеличения дистанции от источника взрыва количество, интенсивность действующих факторов взрыва уменьшается, а соответственно, уменьшается и тяжесть повреждений [5; 37; 39; 54; 104; 126].

Все повреждения, возникающие при взрыве, разделяют на первичные, вторичные, третичные и четвертичные [19; 82; 98; 113; 116; 160].

Первичные взрывные повреждения являются следствием непосредственного воздействия факторов взрыва на организм. Ударная волна в эпицентре способна вызывать мгновенное испарение тканей, контактировавших с боеприпасом. Раскалённые газы приводят к коагуляционному некрозу краёв повреждённых костных и мягких тканей. Волны сжатия распространяются в проксимальном направлении вдоль сосудисто-нервных пучков по фасциальным пространствам, вбивая в ткани осколки, фрагменты одежды, грунт, камни, костные отломки. Кинетическая энергия избыточного давления, распространяясь по тканям, вызывает дистантные повреждения, включая обширные кровоизлияния в мягких тканях. При нахождении пострадавшего на расстоянии от источника взрыва взрывная волна приводит к различной степени тяжести повреждениям внутренних органов и различных анатомических структур [40; 97; 129; 156].

Вторичные повреждения возникают при поражении осколками и предметами окружающей среды, которые становятся ранящими снарядами вследствие воздействия на них энергии взрыва. Такие повреждения называются осколочными ранениями, и, как правило, являются множественными и сочетанными.

Третичные повреждения связаны с метательным воздействием взрывной волны, которая соответствует мощному ударному воздействию. Ранения и закрытые повреждения при этом возникают вследствие ударов об окружающие объекты, сдавлений в завалах зданий, падений и т.п.

Четвертичные взрывные повреждения представляют термические ожоги, вызванные тепловой энергией взрыва, горением одежды и окружающих предметов, а также отравления угарным газом, продуктами горения, что наиболее характерно для взрывов в замкнутом пространстве [36; 60; 115; 127].

Таким образом, при нахождении в непосредственной близости от источника взрыва, пострадавшие получают комбинированное механотермическое повреждение, называемое минно-взрывным ранением, или минно-взрывной травмой. Данные повреждения носят тяжёлый, многофакторный, множественный и сочетанный характер [6; 23; 38; 104; 105; 128; 160].

Опыт Специальной Военной Операции подтверждает, что в современных вооруженных конфликтах повреждения конечностей сохраняют доминирующее положение, составляя подавляющее большинство всей боевой патологии — до 57,3% (по некоторым оценкам, 60–65%) в структуре огнестрельных ранений по локализации и санитарных потерь хирургического профиля [58; 153]. Согласно публикациям отечественных исследователей (Зубрицкий В.Ф. и др., 2022; Давыдов Д.В. и др., 2025), минно-взрывные ранения конечностей преобладают над ранениями и повреждениями других локализаций, носят множественный и сочетанный характер.

Минно-взрывные ранения конечностей характеризуются длительными сроками лечения, а также к высокому уровню инвалидизации [24; 45; 50; 59; 92; 111; 112]. Минно-взрывные травмы конечностей отличаются сложностью в диагностике осложнений, что проявляется высокой частотой осложнений, с нередким развитием генерализации инфекции, неудовлетворительными анатомическими и функциональными исходами [112; 128]. Несмотря на успехи в лечении данной категории пострадавших летальность составляет до 32,4%, а при развитии гнойных осложнений с генерализацией инфекции достигает 56,4% [65; 90].

Соотношение раненых в нижние и верхние конечности составляет 4:1 [23; 70; 154].

Взрывные травмы характеризуются обширной деструкцией тканей и отрывом сегментов конечностей. Чаще всего, они сопровождаются осколочными ранениями, термическими ожогами и массивной контаминацией тканей. Таким образом, повреждения, как правило, носят комбинированный механотермический характер [116; 154].

При подрыве на противопехотной mine характерны отрывы стопы или голени. В оставшейся при этом культе конечности, как правило, инвазируется большое число мелких камней, частиц грунта, других инородных тел и воздуха по межмышечным и паравазальным пространствам в соответствии с расположением фасциальных футляров, а также вдоль костей скелета. Мышечные волокна расслаиваются, а в дальнейшем некротизируются. Одновременно возникают множественные осколочные ранения и термические ожоги конечностей. Часто ранения носят сочетанный характер с повреждением помимо нижних конечностей прилежащих областей тела, включая промежность, таз, прямую кишку и мочеполовые органы. При минно-взрывных поражениях верхних конечностей часто наблюдается травма органа зрения [37; 46; 128; 129; 131].

Ключевым отличием взрывной травмы от минно-взрывного ранения конечности является факт отсутствия прямого контакта её сегмента с боеприпасом. При взрывной травме на ткани конечности действуют следующие поражающие факторы: избыточное давление, метательное и заброневое воздействие взрывной волны [39; 60].

В случае минно-взрывного ранения происходит непосредственный контакт сегмента (сегментов) конечности с боеприпасом, результатом чего становится либо взрывное разрушение тканей, либо полный отрыв (отсечение) сегмента. У таких раненых, как правило, одновременно имеются ранения осколками, механо-термические травмы других областей тела [39].

В зоне непосредственного воздействия взрыва наблюдаются морфологические изменения, формирующиеся по единым для огнестрельных ран принципам, с образованием трех зон повреждения [115].

Первая зона возникает вследствие местного воздействия ударной волны и соответствует области разрушения или отрыва поражённой части тела. Как правило, у пострадавшего определяется разрушение или отрыв сегмента конечности, либо обширная зияющая рана. Для области раневого дефекта характерно образование разнообразных кожных лоскутов, травмированных мышечных масс, видны сосуды, сухожилия, обнажённые костные фрагменты,

признаки термического ожога, следы копоти и выраженная контаминация тканей частицами грунта.

Вторая зона является зоной первичного некроза, которая формируется в результате местного действия ударной волны и высокой температуры продуктов детонации и пламени. Она включает ткани, прилегающие к первой зоне, сразу после взрыва утратившие жизнеспособность. Для нее характерны очаговые кровоизлияния, распространяющиеся проксимально на большом протяжении вдоль межмышечных, парафасциальных, паравазальных и параневральных пространств. Также определяются очаговые и протяжённые участки некроза подкожной жировой клетчатки, фасций, мышц, сухожилий и костей. Отягощают последствия взрыва многооскольчатые переломы, протяженные участки скелетирования костей, тромбозы магистральных сосудов и термические ожоги всех тканей, включая кости.

Протяжённость сплошного некроза достигает 3–6 см, очагового – от 5 до 15 см в проксимальном направлении.

Зона вторичного некроза является следствием и локального, и дистантного воздействия повреждающих факторов взрыва. Ее характеризует мозаичный рисунок с участками разной степени выраженности изменений, морфологической структуры и распространённости. Макроскопически в ней определяются участки с измененным цветом тканей, паравазальные, периневральные и межмышечные кровоизлияния. Микроскопически определяется нарушение микроциркуляции, деструкция клеток и внутриклеточных структур.

1.3 Роль ангиогенеза на этапе реконвалесценции при хирургических инфекциях конечностей

В норме, у взрослого организма ангиогенная активность находится на низком уровне. Значительная активация этого процесса наблюдается в периоды роста и развития организма, а также при регенеративных процессах, в том числе в ходе заживления ран [221; 234].

В контексте проведенного исследования представляется важным обозначить

неразрывную связь между ангиогенезом в ране и фазами раневого процесса. Подробное рассмотрение этих процессов в динамике позволяет понять, на какой из них возможно (и возможно ли в принципе) применение клеточных технологий с целью регулирования ангиогенеза в ране, а также профилактики избыточного рубцеобразования и формирования «триггерных» зон.

В иностранных научных публикациях для оценки раневого процесса часто употребляется четырёхстадийная система BYRP (Black, Yellow, Red, Pink) [117; 118; 151; 210]:

- ✓ стадия Black (чёрная): наличие некротических тканей;
- ✓ стадия Yellow (жёлтая): наличие фибринозного экссудата в ране;
- ✓ стадия Red (красная): присутствие грануляционной ткани;
- ✓ стадия Pink (розовая): эпителизация раны.

В отечественной литературе раневой процесс подразделяют на 3 фазы, согласно классификации М.И. Кузина [118].

I фаза – воспаление. Включает период сосудистых изменений и период очищения раны.

II фаза – регенерация. Ассоциирована с формированием и созреванием грануляционной ткани.

III фаза – реорганизация рубца и эпителизация.

Также представлена несколько видоизмененная классификация раневого процесса по М.И. Кузину [74], в которой в динамике местных реакций выделяют 4 фазы.

Первая фаза – сосудистых реакций. Ее основу составляют спазм и последующее тромбообразование в просвете сосудов микроциркулярного русла. Нарушение микроциркуляции в тканях ведет к развитию гипоксии и накоплению недоокисленных продуктов жизнедеятельности клеток тканей (ацидозу), что, в свою очередь, создает условия для повышения проницаемости клеточных мембран и развитию травматического отека. При благоприятном течении процесса происходит восстановление микроциркуляции, что знаменует переход

ко второй фазе — очищению раны. В неблагоприятных условиях формируются очаги некроза.

Патогенетическую основу клеточных и тканевых реакций второй фазы (очищения раны) составляют процессы, инициированные ещё в первой фазе. Они включают умеренный ацидоз, выделение из поврежденных тканей внутриклеточных ферментов и их активацию, избыточную секрецию тучными клетками поверхности эндотелия сосудов гистамина и серотонина. Активация протеолиза и калликреин-кининовой системы приводят к появлению биологически активных пептидов, вызывающих увеличение проницаемости сосудистой стенки, вазодилатацию и повышение в тканях осмотического давления. В результате жидкая часть крови выходит за пределы микрососудистого русла в окружающие ткани с образованием травматического отёка, являющегося одним из ключевых факторов первичного очищения раны. Он способствует формированию гемостаза в области повреждения и механическому удалению детрита, свертков крови, инородных частиц из просвета раневого канала. Вторичное очищение реализуется за счёт способности моноцитов создавать демаркационный вал, который отделяет жизнеспособные ткани от некротизированных, содержащих токсические продукты распада [92; 99]. Ферментативное расплавление некротизированных тканей превращает их в жидкую гнойную массу. Таким образом, основная задача описанных процессов заключается в трансформации нежизнеспособных тканей в жидкое состояние и эвакуации их из раневой полости [84; 100; 164].

Фаза вторичного очищения является характерным этапом течения раневого процесса при бактериально загрязненных, обширных, рвано–ушибленных, рубленых ранах, сопровождающихся массивным разрушением тканей, что особенно характерно для огнестрельных минно–взрывных ранений. Все раны, кроме нанесенных стерильным хирургическим инструментом, априори первично обсеменены различными видами микроорганизмов, которые проникают в рану вместе с ранящим снарядом. В результате, в ране образуется микрофлора, которая либо способствует вторичному очищению раны, либо становится источником

раневого инфицирования [144]. Раневая инфекция, как правило, формируется в течение регенераторной фазы раневого процесса при распространении патогенов за пределы некротизированных очагов в окружающие жизнеспособные ткани, вступая во взаимодействие с макроорганизмом [95].!!!!

Фаза регенерации характеризуется образованием молодой соединительной (грануляционной) ткани, в основе структуры которой лежит сеть образующихся новых капилляров с фибробластами. Изначально она формируется в виде отдельных островков на поверхности дна и стенок раневой полости, впоследствии заполняя всю полость. Источником капиллярной сети служат сохранившиеся повреждённые капилляры, а окружающие их фибробласты, обладая высокой синтетической активностью, создают коллагеновые волокна. В формировании соединительной ткани также участвуют макрофаги, тучные и плазматические клетки.

В фазе рубцевания и эпителизации происходит созревание соединительной ткани посредством накопления коллагеновых волокон. Грануляционная ткань уплотняется, формируя рубец, заполняющий раневой дефект, соответственно такое заживление называется рубцеванием. Одновременно происходит эпителизация раневого дефекта. Источником эпителиальной ткани при этом являются клетки базального слоя кожи или слизистых оболочек. Такой путь заживления обозначается как заживление путём эпителизации.

В процессе онтогенеза выделяют два принципиально различных механизма образования микрососудов, каждый из которых ведёт к возникновению простых, покрытых эндотелием капилляроподобных трубок. Первый из них – васкулогенез. Он первичен в месте дифференцировки эндотелиальных клеток из предшественников мезодермального ростка в первичные капиллярные сплетения. Второй механизм, носящий название ангиогенез, представляет собой биологический процесс, в ходе которого из предсуществующих кровеносных сосудов образуются новые, что обеспечивает расширение и структурную перестройку сосудистого русла [131; 201; 223]. Основную роль в данном процессе играют эндотелиальные клетки. Благодаря их способности к миграции,

пролиферации и взаимодействию с другими типами клеток (такими как перициты), происходит формирование новых сосудистых структур [53; 142].

Формирование функциональной сети кровеносных сосудов посредством ангиогенеза является важнейшим компонентом заживления ран. Обычно заживающая рана демонстрирует устойчивый рост капилляров, за которым следует контролируемое регрессирование капилляров [49; 191]. При заживлении ран первоначальная интенсивная ангиогенная реакция приводит к такой плотности сосудов, которая намного превышает их концентрацию в нормальной неповрежденной ткани. На пике своего развития содержание капилляров в заживающих ранах в 3 и более раз выше, чем в нормальной неповрежденной ткани. Эта новая сосудистая сеть необходима для восстановления способности тканей к насыщению кислородом и обеспечению роста ткани с целью заполнения раневой полости. Процесс регрессирования новообразованных капилляров строго регулируется и включает в себя избирательный апоптоз [189; 190; 194; 197, 217; 237]. Регуляция раневого ангиогенеза включает как проангиогенные, так и антиангиогенные стимулы, причем уровень роста капилляров зависит от набора обоих факторов.

Экспериментально наблюдаемый ангиогенез начинается с активации покоящихся эндотелиальных клеток, скорость пролиферации которых возрастает в 100 раз. Активированные клетки делятся и формируют эндотелиальную почку, которая проникает через базальную мембрану в подлежащую соединительную ткань. Этот процесс сопровождается активацией факторов роста, продуцируемых как самими эндотелиальными клетками, так и компонентами внеклеточного матрикса. Однако механизмы, регулирующие последующее сокращение количества новообразованных сосудов, остаются недостаточно изученными.

Различные факторы роста, цитокины и липидные медиаторы, вырабатываемые в ответ на повреждение, могут стимулировать ангиогенез. Стимуляция ангиогенеза в грануляционной ткани вначале осуществляется рядом протеинов, таких как фактор роста фибробластов 2 (FGF2), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и основной фактор роста фибробластов

(bFGF).

К основным стимуляторам ангиогенеза, прежде всего, относятся представители семейства фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), обладающие следующими свойствами:

- выполняют функцию многофункционального цитокина, модулирующего биологическую активность эндотелиальных клеток [26, 226];
- выступают ключевым фактором васкулогенеза и ангиогенеза в эмбриональном развитии [26; 191; 228];
- играют ведущую роль в постнатальном ангиогенезе при различных патологических состояниях [191].

VEGF является одним из наиболее мощных проангиогенных факторов роста кожи, и количество VEGF, присутствующего в ране, может значительно повлиять на заживление [142; 167]. Экспериментальные данные показывают, что, при удалении VEGF из зоны повреждения, формирование грануляционной ткани не происходит. Кроме того, ангиогенез в ране прекращается, и нормальная регенеративная реакция становится невозможной [142; 271]. Клиническая значимость адекватной выработки VEGF во время заживления ран неоднократно демонстрировалась первооткрывателем молекулы VEGF – американским ученым Napoleone Ferrara [139]. Уровни активного белка VEGF, как правило, аномально низки у людей с хроническими незаживающими ранами. Недостаточная васкуляризация раны, обусловленная низкой активностью VEGF, вероятно, способствует задержкам в процессе заживления. Следовательно, препараты, блокирующие активность VEGF, которые используются для лечения нескольких видов рака, представляют значительный риск осложнений при заживлении ран [189].

Семейство VEGF подразделяется на несколько групп: A, B, C, D, E, а также включает плацентарный фактор роста [210, 217]. В частности, для VEGF A идентифицировано пять изоформ (VEGF 121, 145, 165, 189, 206), различающихся длиной аминокислотной последовательности. Все эти изоформы проявляют митогенную активность в отношении эндотелиальных клеток и индуцируют

неоваскуляризацию [8; 67; 91; 108; 195; 210; 217].

Наиболее распространённой изоформой является VEGF 165, в то время как VEGF 206 представляет собой редко встречающийся вариант. Согласно имеющимся данным, VEGF 189 преимущественно стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток, тогда как VEGF 165 обеспечивает адгезию этих клеток и последующее формирование сосудистой трубки [26; 217]. Все изоформы фактора роста эндотелия сосудов оказывают воздействие на эндотелиальные клетки, регулируя их рост, размножение и миграционную активность. Гипоксические условия являются мощным стимулом для усиленной экспрессии VEGF [26; 86; 91; 181; 228]. Кроме того, индукция транскрипции этого фактора происходит при гипогликемии и ацидозе, что играет существенную роль в поддержании пролиферации, дифференцировки и жизнеспособности эндотелия [86].

Основным источником циркулирующего VEGF служат тромбоциты [86]. Согласно опубликованным данным, рецепторы к данному фактору роста экспрессируются исключительно на поверхности эндотелиальных клеток. В то же время рецепторы для большинства других проангиогенных молекул обнаруживаются и в других типах тканей [139; 141].

VEGF индуцирует синтез оксида азота (NO) и простаглицлина (PGI), что приводит к вазодилатации, оказывает антитромботическое действие, уменьшает адгезию лейкоцитов и усиливает противовоспалительную активность. Эти эффекты подтверждают наличие у данного фактора роста цитопротекторных свойств [26; 102; 228].

В настоящее время, в работах Черданцевой Т.М. и соавт. (2023), показано, что VEGFR могут экспрессироваться множеством других типов клеток, участвующих в заживлении ран. Например, кератиноциты и макрофаги экспрессируют VEGFR и способны непосредственно реагировать на VEGF [53; 162; 209; 210].

VEGF стимулирует ангиогенез, а также влияет на закрытие раны и восстановление эпидермиса, формирование грануляционной ткани и качество заживления — за счёт прочности зажившей раны, так и количества отложившейся

рубцовой ткани [119; 243].

В целом, данные как фундаментальных научных (Фриденштейн А.Я. и соавт., 1974; Ichioka S., и соавт., 2005; Akino K. и соавт., 2005; Falanga V. и соавт., 2007;), так и клинических исследований (Т. Yoshikawa и соавт., 2008; Колесникова И.А. 2008; Lee H.C. и соавт., 2012; Marino G. и соавт., 2013; Yamakawa S. и соавт., 2019) указывают на то, что для эффективного заживления ран необходимы соответствующие уровни VEGF [53].

К другим значимым проангиогенным факторам относятся основной фактор роста фибробластов (FGF-2), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), представители семейства трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β), ангиопоэтины (ANGPT-1, ANGPT-2), интерлейкин-8 (IL-8) и сердечный белок анкиринового повтора (CARP) [200; 210; 220; 252]. Механизм действия этих факторов связан с ускорением заживления раны посредством стимуляции неоваскуляризации.

Структурную основу внеклеточного матрикса образуют коллаген, фибронектин и ламинин, синтезируемые стромальными клетками. Прекращение стимулирующего воздействия проангиогенных факторов приводит к возвращению эндотелиальных клеток в состояние покоя. Ангиогенез играет критическую роль в формировании регенерата, поскольку новообразованные микрососуды обеспечивают направленную миграцию фибробластов к раневой поверхности и поддерживают их метаболические потребности. В случае недостаточного ангиогенеза миграция фибробластов останавливается, что приводит к замедлению процесса заживления раны [167].

Согласно исследованиям (Н.В. Еремин и М.В. Мнихович, 2014) вещество, заполняющее межклеточное пространство, — внеклеточный матрикс — служит субстратом для миграции и адгезии клеток. В зоне формирующегося рубца сосудистая сеть представлена как сохранившимися сосудами (преимущественно веноулярного типа), так и новообразованными капиллярами с функционально активным эндотелием. Грануляционная ткань представляет собой высокоорганизованную и динамичную систему, объединяющую клеточные

элементы различного генеза и формирующиеся из них структуры (включая сосуды). Это позволяет рассматривать её как особую временную органно-тканевую структуру, обеспечивающую репаративную регенерацию по типу замещения. Развитие и преобразование грануляционной ткани регулируется комплексом местных (клеточных и тканевых) и системных факторов организма [56; 57; 217].

К 8–10-м суткам наблюдается трансформация: в области будущего рубца начинается переход грануляционной ткани в молодую соединительную ткань. Например, в зоне, непосредственно прилегающей к повреждению, определяется выраженная картина активной регенерации соединительной ткани. Наиболее характерными процессами на этом этапе репарации являются активное образование капиллярной сети и интенсивный синтез коллагеновых и фибриллярных структур. Особое значение имеет изучение регуляторных факторов ангиогенеза, включая VEGF [131].

В ходе дальнейшего заживления грануляционная ткань превращается из богато васкуляризированной, высококлеточной структуры в молодую соединительную ткань с относительно низкой плотностью сосудов и уменьшением клеточного компонента на фоне нарастания коллагенового матрикса. Согласно одной из гипотез, уменьшение количества клеток в зоне репарации связано с активацией апоптоза. Исследования демонстрируют, что после эпителизации раны, со временем, всё больше клеток обнаруживается на различных стадиях программируемой гибели. Нарушение физиологического течения этого процесса может привести к формированию хронической незаживающей раны с избыточной клеточностью или, напротив, к образованию грубой рубцовой ткани. Именно такая гистологическая картина характерна для обширных ран с длительным периодом эпителизации (свыше 3 недель). Данное клинко-морфологическое состояние является предрасполагающим фактором для развития рубцовой контрактуры или келоидного рубца [170].

Точные механизмы, запускающие апоптоз, остаются предметом изучения. Наблюдения показывают, что при использовании кожного трансплантата для

закрытия гранулирующих ран происходит более активная резорбция клеточных элементов. Среди возможных причин этого явления в первую очередь следует отметить взаимодействие таких факторов роста, как TNF, TGF- β , TGF- α и PDGF, которые высвобождаются из тромбоцитов, лейкоцитов и моноцитов [11; 142].

Известно, что начало регрессирования сосудов совпадает с резким снижением проангиогенной активности. Данное событие послужило стимулом к созданию концепции, суть которой состоит в наличии прямой пропорциональной зависимости: общее снижение проангиогенного сигнала в количественном выражении приводит к такому же содружественному снижению количества капилляров в ране. В проведенных экспериментах, целью которых было подтверждение зависимости развития ангиогенеза в ране от количества факторов, стимулирующих ангиогенез, было показано, что постоянный высокий уровень проангиогенных факторов не влияет на высокий уровень васкуляризации раны [206; 208; 215; 271].

Таким образом, считается, что регресс сосудистого русла в ранах связан с активной антиангиогенной средой, создающейся во внеклеточном матриксе в процессе заживления, – несколькими специфическими факторами, которые включают тромбоспондин, интерферон-гамма-индуцированный белок 10 (IP-10), также известный как хемокиновый лиганд 10 с мотивом CXС (CXCL 10) и Sprouty-2 [178; 268; 271; 274; 278; 279].

Еще одним установленным антиангиогенным фактором считается ген 4 (ECRG 4), который действует как опухолевый супрессор, ингибируя пролиферацию и миграцию, индуцируя остановку фазы G0/G1 и апоптоз по митохондриальному пути. После появления морфологического субстрата в виде раны происходит накапливание гена ECRG 4 по ее периферии, и далее, при избыточной его экспрессии, угнетается направленная миграция фибробластов и, таким образом, подавляется фаза регенерации, а сроки заживления раны увеличиваются [13; 167; 220; 244; 255; 272].

В связи с тем, что согласно данным многих исследований, неоангиогенез играет критическую роль в обеспечении полноценной регенерации тканей,

закономерным представляется предположение о потенциальной эффективности различных методов его потенцирования в зоне гранулирующей раны.

Клеточная терапия – клиническое использование аутологичных, аллогенных и ксеногенных живых клеток, которые подвергнуты обработке и/или модификации *ex vivo* [91; 237]. Направленное действие клеточной терапии осуществляется за счет активной жизнедеятельности введенных клеток, их размножения, дифференцировки, выработки биологически активных веществ и взаимодействия с клетками пациента [170]. Различные по происхождению живые клетки, используемые в клеточной терапии, при введении в организм больного должны быть способны к активному функционированию. Как итог, происходит восстановление, улучшение или замена утраченной функции органа или ткани [102]. Взлёт научного интереса к данной теме стал возможен после получения эмбриональных стволовых клеток в 1998 г. [237].

Стимуляция ангиогенеза с использованием методов клеточной и генной терапии обозначается термином "терапевтический ангиогенез". В настоящее время его рассматривают, как один из наиболее перспективных способов борьбы с ишемическими заболеваниями, включая ишемическую болезнь сердца (ИБС) и хронические ишемические поражения нижних конечностей [106; 182; 237].

С этой целью применялись клетки, получаемые из костного мозга, периферической крови, жировой ткани, плаценты. Самым доступным из перечисленных источников клеточного материала является жировая ткань, с целью терапевтического ангиогенеза из нее получают мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани (МСК–ЖТ) [181]. Они имеют высокую паракринную активность и способны дифференцироваться в эндотелиальные клетки [196; 228; 258]. МСК–ЖТ относительно легко можно получить не только оперативным путем, но и посредством биопсии жировой ткани [86; 149; 217; 219].

В настоящее время активно развивается ортобиологическое направление регенеративной медицины в лечении воспалительных заболеваний различной этиологии [138; 142]. Разрабатываются схемы применения клеточных технологий в практической клинической деятельности врачей хирургического профиля с

целью скорейшего заживления ран и получения удовлетворительных функциональных результатов в отдаленный период. В частности, ортобиологическое направление регенеративной медицины активно развивается в лечении воспалительно-дистрофических заболеваний костно-мышечной системы [142]. Точка приложения ортобиологической терапии – периартикулярные ткани с целью купирования воспалительных изменений и восстановления поврежденных тканей сухожилий, связок, суставного хряща, других соединительнотканых структур путем их имитации биоматериалами для ускорения регенерации.

Трансплантацию клеточного материала осуществляют как системно, так и непосредственно в область дефекта органа или ткани. При аутологичной трансплантации используются собственные клетки больного, что минимизирует риск реакции отторжения [265]. Идеальной моделью считаются эмбриональные стволовые клетки, способные дифференцироваться в любые типы клеток всех трех зародышевых листков [190; 205; 229; 231]. В то же время, перспективную альтернативу использованию эмбриональных стволовых клеток в рамках данного направления представляет собой применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга (ММСК-КМ) [250, 263]. ММСК обладают высоким пролиферативным потенциалом, имеют возможность многократно делиться и замещать поврежденную ткань, что определяет их высокий потенциал для клинического использования. На сегодняшний день накоплены обширные данные, характеризующие уникальные свойства ММСК-КМ [256]: выраженная адгезивная способность, способность к дифференцировке в костную, хрящевую и жировую ткани, а также возможность их выделения из большинства типов тканей взрослого организма. Эффективность ММСК-КМ доказана в многочисленных доклинических, а в последствии, и в клинических исследованиях [180; 245]. В то же время их использование связано со значительными трудностями при заборе материала. Аспирация костного мозга, являясь высоко инвазивной процедурой, сопряжена с небольшим выходом прогениторных клеток. Это стимулировало поиск других доступных, менее инвазивных и экономически эффективных источников ММСК [220; 236; 240].

На протяжении последних двух десятилетий всё большее внимание исследователей и клиницистов привлекает подкожная жировая ткань как альтернативный костному мозгу источник стволовых и прогениторных клеток для регенеративной медицины. В 2001 году группа учёных Питтсбургского университета под руководством Bill Futrell идентифицировала присутствие ММСК в жировой ткани, что позволило с научной точки зрения объяснить наблюдаемые пластическими хирургами регенераторные эффекты липофиллинга и дало начало новой эре в изучении и клиническом применении жировой ткани [44].

Взятие биоптатов жировой ткани происходит с применением местной анестезии [261]. Данная процедура занимает намного меньше времени, чем получение материала из костного мозга, а извлеченные фракции применяют в клинической практике без стадии культивирования клеток [41; 43; 91; 132; 137, 161; 240; 246; 278; 279]. Более того, подкожная жировая клетчатка, обладая большим запасом стволовых и прогениторных клеток [149; 182; 198; 203; 230; 250; 253; 275], позволяет получить значительно большее число ММСК, чем из костного мозга [191; 212; 269].

Липоаспирация в настоящее время является хорошо отработанной, стандартизированной процедурой, она проста в выполнении, может выполняться в условиях процедурного кабинета в течение не более 1,5 часов и в настоящее время имеет широкое распространение [191; 203; 245; 265].

За последние 7 лет проведено 127 рандомизированных исследований, доказавших клиническую эффективность СВФ–ЖТ в лечении патологии различных органов и тканей, в том числе хронических незаживающих ран, келоидных рубцов [106].

В практической клинической деятельности урологических, общехирургических, кардиохирургических, колопроктологических гинекологических отделений, клиник реконструктивной и пластической хирургии активно применяют аутоплазму и СВФ–ЖТ в качестве монотерапии или с целью повышения эффективности комплексного лечения.

СВФ-ЖТ используют для лечения пациентов с различными заболеваниями, включая рассеянный склероз, инфаркт миокарда, болезнь Крона, острые нарушения мозгового кровообращения, хронические трофические и лучевые язвы, ожоги, различные дефекты мягких тканей и костей. Находящиеся в СВФ-ЖТ макрофаги обладают противовоспалительным фенотипом (M2) и, следовательно, способны уменьшать воспаление [29; 148; 204]. В СВФ-ЖТ содержатся как цитокины, которые, будучи биологическими активными веществами, ускоряют регенерацию поврежденной области и способствуют биологической активации клеток организма, так и VEGF, который стимулирует эндотелиальные клетки секретировать различные катепсины и ингибировать апоптоз эндотелиальных клеток [162].

Известно об успешном применении СВФ-ЖТ в составе комплексной терапии дегенеративно-дистрофических заболеваний межпозвонковых дисков со стойким положительным эффектом, хронических трофических язв нижних конечностей. Методика применения СВФ-ЖТ при медленно заживающих трофических язвах нижних конечностей заключается в проведении внутримышечных инъекций по периметру дефекта мягких тканей конечностей, или инъекций под УЗ-навигацией по ходу артериальных сосудов, питающих зону хронической язвы. В результате проводимой терапии отмечалось заживление хронических язв нижних конечностей в течение 12 месяцев, уменьшение болевого синдрома, улучшение показателей лодыжечно-плечевого индекса. В ходе контрольной ангиографии нижних конечностей визуализировались множественные хорошо развитые коллатеральные сосудистые сети [187].

Использование автоматизированных систем производства СВФ-ЖТ позволило стандартизировать процедуру выделения и существенно повысить качество и чистоту получаемого продукта. Однако, несмотря на очевидные преимущества, стоимость такого оборудования и расходных материалов остаётся очень высокой, что ограничивает их доступность для большинства лабораторий и пациентов [184; 211; 239; 259; 264].

Определены ключевые требования к методике выделения СВФ-ЖТ:

- надежная профилактика контаминации биологического образца;
- возможность объективного подтверждения эффективности процедуры, сохранение высокого потенциала полученного клеточного материала, к регенерации;
- простота исполнения (возможность осуществления выделения клиницистами, минимальные требования к техническому обслуживанию и подготовке исполнителей в сфере клеточных технологий);
- экономически оправданная себестоимость.

Эффективное решение данных вопросов повышает доверие к клеточным технологиям, способствует их широкому распространению, значительно увеличивая доступность методики для пациентов [20; 69; 85; 182; 195; 199].

Местное применение СВФ–ЖТ не вызывает существенных побочных эффектов, и может применяться в комплексном лечении гнойно-септических хирургических заболеваний и гнойно-септических осложнений ран, сопровождающихся, в том числе, развитием глубоких и обширных дефектов мягких тканей конечностей в стадии реконвалесценции [32; 144; 147; 235].

Таким образом, на основании данных, полученных из обзора литературы, можно сделать вывод, что применение СВФ–ЖТ можно считать перспективным методом лечения пациентов с активно гранулирующими ранами после оперативного лечения пациентов с хирургической инфекцией конечностей.

ГЛАВА 2. ОРГАНИЗАЦИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Концептуально, исследование состояло из двух основных частей – экспериментальной и клинической.

2.1 Экспериментальная часть

В рамках экспериментальной работы была проверена гипотеза о регенераторных свойствах мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, обладающих фибро- и хондрогенным дифференцировочным потенциалом.

Объект исследования: процесс репаративной регенерации первично инфицированного открытого повреждения пяточного сухожилия у крысы.

Предмет исследования: особенности морфологической картины и качественных показателей регенерации при трансплантации аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в зону первично инфицированного открытого повреждения пяточного сухожилия у крысы.

В исследовании применялись гистологический и иммуногистохимический методы анализа.

Экспериментальная часть исследования выполнена на базе НИО (медико-биологических исследований) с привлечением специалистов НИО (экспериментальной медицины) научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова Минобороны России.

2.1.1. Общая характеристика экспериментального исследования

В качестве объекта исследования были использованы 72 беспородных крысы-самца с вариабельной массой тела (от 350 до 425 г). Все животные были получены из специализированных питомников и проходили обязательный 14-дневный карантин после доставки. Их удовлетворительное физиологическое состояние было подтверждено как сопроводительной санитарно-гигиенической

документацией, так и результатами клинического осмотра ветеринарным врачом. В период проведения эксперимента крысы содержались в условиях стационарного вивария с неограниченным доступом к воде и пище. Условия содержания соответствовали требованиям «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (№ 1045–73 от 06.04.1973).

Все экспериментальные манипуляции проводились в строгом соответствии с действующими законодательными и нормативными актами, регламентирующими работу с лабораторными животными.

Содержание животных, моделирование открытого инфицированного повреждения пяточного сухожилия и хирургические вмешательства выполнялись на экспериментальной базе Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Культивирование мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), их трансфекция и введение лабораторным животным проводились с привлечением специалистов Научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований и экспериментальной медицины) того же учреждения.

Гистологический анализ образцов тканей осуществлялся на базе кафедры патологической анатомии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова.

Общая продолжительность экспериментального наблюдения составила 74 суток с момента поступления животных в виварий (включая срок карантина). По окончании периода наблюдения особи были выведены из эксперимента путем углубления наркоза, индуцированного препаратом «Золетил 100».

Утилизация биологических отходов производилась в соответствии с действующими ветеринарно-санитарными правилами (№ 13-7-2/469 от 04.12.1995).

Дизайн экспериментальной части исследования представлен на рисунке 2.1.



Рисунок 2.1. Дизайн экспериментальной части исследования

2.1.2 Гистологические методы исследований (в эксперименте)

Забор материала проводили в день вывода животного из эксперимента путем резекции участка пяточного сухожилия в месте прикрепления к костной ткани бугра пяточной кости крысы (Рисунок 2.2).



Рисунок 2.2. Забор материала для морфологического исследования (фрагмент сухожилия и прилежащего участка костной ткани пяточного бугра крысы).

Морфометрическое исследование (экспериментальная часть)

Количественная оценка результатов исследования была выполнена с помощью морфометрии серии из 30 микрофотографий продольных срезов пяточных костей. Полную площадь срезов документировали, используя световую микроскопию с увеличением $\times 100$ и объективы HC PL FLUOTAR 10 \times /0,30 PH 1 (световой микроскоп «Leica», объективы HC PL FLUOTAR 10 \times /0,30 PH 1 и 20 \times /0,50 PH 1). В результате, были получены цифровые изображения с разрешением 2048 \times 1536 пикселей. Для каждого гистологического образца создавали серию из 10 последовательных микрофотографий, каждая из которых получала уникальный порядковый номер.

Одним из ключевых методов морфологического анализа в экспериментальных исследованиях повреждений сухожилий является полуколичественная оценка упорядоченности коллагеновых волокон. С учетом одной из задач исследования, включающей оценку динамики регенерации сухожилия на 30-е и 60-е сутки, использовали шкалу Bonar (Bonar score), предложенную Bonar и соавт. [226], поскольку она: валидирована и широко применяется; проста; включает ключевой параметр – организацию коллагеновых волокон; удобна для статистического анализа. Шкала состоит из четырех компонентов: морфология тендоцитов; основное вещество; васкуляризация; организация коллагеновых волокон (параллельность волокон, плотность пучков, наличие разобщения и фрагментации). Каждый параметр оценивается по 4-балльной шкале, от 0 до 3, где: 0 соответствует нормальной структуре, а 3 – выраженным патологическим изменениям. Суммарный балл варьирует от 0 до 12 [226; 276]: высокие значения соответствуют дезорганизации коллагеновой структуры.

Для повышения чувствительности анализа в качестве отдельного параметра дополнительно оценивали показатель упорядоченности коллагена [276].

На последующем этапе в специально отобранных полях зрения области энтезиса проводили подсчет количества новообразованных кровеносных сосудов. Анализ морфометрического исследования включал обработку его результатов на

15-е, 30-е, 45-е и 60-е сутки после оперативного вмешательства).

Иммуногистохимическое исследование (экспериментальная часть)

Выявление специфического маркерного белка в костно-хрящевых регенератах осуществляли посредством иммуногистохимического исследования с моноклональными антителами к зеленому флуоресцентному белку (GFP) — ab290 (Abcam). Визуализация продукта реакции осуществлялась с помощью системы EnVision™/HRP (Dako). До иммуногистохимической реакции декальцинированные гистологические срезы обрабатывали с целью антигенной демаскировки при высокой температуре в цитратном буфере. После инкубации с первичными антителами осуществляли визуализацию с помощью системы детекции DAB-kit (Dako). При положительной реакции в препарате появлялось коричневое цитоплазматическое окрашивание.

Методика получения, культивирования и контроля мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК) получали из стромально-васкулярной фракции жировой ткани. Исходным биоматериалом служил интраабдоминальный висцеральный жир, который забирали у животного при его выведении из исследования посредством введения летальной дозы комбинированного препарата для общей анестезии животных «Золетил 100».

Биоматериал погружали в стерильную пробирку, содержащую солевой раствор Дульбекко. Дальнейшие манипуляции осуществляли в условиях ламинарного бокса. Путем механического воздействия хирургическими инструментами жировую ткань гомогенизировали и в течение 10 минут инкубировали, дожидаясь расслоения полученной суспензии. Убирая верхний масляный и нижний солевой слои, средний слой полученного материала с целью выполнения ферментативной деградации смешивали с равным по объему 0,1% раствором коллагеназы. Инкубация с коллагеназой проводилась в течение 40 минут в условиях постоянного перемешивания на магнитной мешалке при температуре 37°C.

Реакцию периодически останавливали, добавляя такой же объем полной питательной среды DMEM, включающей 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Далее суспензию в течение 10 минут центрифугировали (500 g) и эвакуировали супернатант. С целью гемолиза эритроцитов, полученный осадок ресуспендировали в лизирующем буфере (155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 1 mM ЭДТА). Через 10 минут, для полной эвакуации рабочих растворов, центрифугирование повторяли и осадок дважды отмывали питательной средой DMEM.

Количество полученных ядросодержащих клеток и их жизнеспособность оценивали посредством прямого подсчета в камере Горяева с применением 0,4% раствора трипанового синего (микроскоп AxioLab A1). ММСК помещали в культуральные флаконы Т-25 с адгезивным покрытием в количестве 1200 клеток/см². Их культивирование осуществлялось в условиях CO₂-инкубатора (5% CO₂, 100% влажность, 37°C) в среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 50 мкг/мл гентамицина и 2 мг/мл L-глутамина. Через сутки после посева, а дальше два раза в неделю осуществляли смену среды.

Когда конфлюэнтность монослоя достигала 80%, выполнялось пассирование клеток. С этой целью удаляли культуральную среду, отмывали монослой раствором Дульбекко без ионов кальция и магния и обрабатывали 0,25% раствором трипсин-ЭДТА (37°C, 10 мин.). Действие трипсина нейтрализовали добавлением полной питательной среды. Клеточную суспензию центрифугировали, ресуспендировали, подсчитывали и пересеивали в новую посуду с исходной плотностью посева. В экспериментах использовали клетки третьего пассажа, которые вводили в зону смоделированного повреждения для последующего гистологического анализа.

Трансфекция ММСК

Для визуализации трансплантированных в зону регенерации ММСК проводили их генетическую маркировку. С этой целью клетки культуры подвергались трансфекции лентивирусным вектором, несущим ген зеленого флуоресцентного белка (Green Fluorescent Protein, GFP). Для их идентификации в

регенерате проводили иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных антител к зеленому флуоресцентному белку, специфичных к маркерному белку (антитела ab290, Abcam).

Рекомбинантные лентивирусные частицы получали с помощью ко-трансфекции упаковочной клеточной линии HEK293T, используя кальций-фосфатный способ. Сборку вирусных частиц осуществляли с помощью плазмид трех типов: оболочечных (pCMV-VSV-G, plasmid ID №8454), векторных (EF.GFP, plasmid ID №17616) и упаковочных (psPAX2, plasmid ID №12260), полученных из некоммерческого репозитория AddGene.

Клетки HEK293T культивировали до формирования 70% монослоя в чашках диаметром 10 см. Заменяв культуральные среды, после 2 часовой выдержки, выполняли трансфекцию, вводя в отдельно приготавливаемую культуру трансфекционную смесь. Она включала: 293 мкл TE-буфера (0,1x, pH 8,0), 3,51 мкг оболочечной плазмиды, 10,14 мкг векторной плазмиды, 6,63 мкг упаковочной плазмиды, 506 мкл 2x раствора HBS (0,280 M NaCl, 0,1 M Hepes, 0,0015 M Na₂HPO₄, pH 7,12), 151 мкл деионизированной воды MilliQ и 50 мкл 2,5 M раствора CaCl₂.

Спустя 6–8 часов после завершения трансфекции производили смену культуральной среды на свежую. Вирусосодержащий супернатант собирали три раза с 12-часовыми перерывами. Полученные порции супернатанта объединяли и центрифугировали в течение 5 мин. со скоростью вращения 1500 об/мин, затем пропускали через стерильный нейлоновый фильтр с размером пор 0,22 мкм.

С целью концентрирования рекомбинантных лентивирусных частиц их на протяжении 2-х часов ультрацентрифугировали (центрифуга Optima™ L-90K) при скорости вращения 26000 об/мин и температуре 4°C. Осадок ресуспендировали в 2 мл культуральной среды, аликвотировали, помещали в криопробирки и хранили в низкотемпературном морозильнике при температуре -80°C.

Иммуногистохимическое исследование

Визуализацию продуктов реакции осуществляли с применением системы

EnVision™/HRP (Dako) в комплекте со специализированными реагентами. До иммуногистохимической реакции декальцинированные гистологические срезы с целью антигенной демаскировки обрабатывали при высокой температуре в цитратном буфере. После инкубации с первичными антителами осуществляли визуализацию с помощью системы детекции DAB-kit (Dako), которая формирует устойчивый хромогенный продукт реакции. В результате специфического связывания антител в цитоплазме целевых клеток формировалось характерное коричневое окрашивание, позволяющее проводить их четкую морфологическую идентификацию в ткани.

Гистологическое исследование

Гистологические препараты подготавливали в соответствии со стандартным протоколом для костной ткани, в том числе выполняя их декальцинацию: препараты костной ткани погружали в раствор жидкости «Софтидек» (производства «Биовитрум») в соотношении объемов 1:50 соответственно. Каждые 24 часа раствор меняли на новый, параллельно оценивая степень мягкости тканей препаратов с помощью иглы. По завершении декальцинации, препараты 30 минут промывали проточной водой. Далее осуществлялась стандартная гистологическая проводка, заливка препаратов в парафин и их микротомия с образованием срезов толщиной 5 мкм. Окрашивание выполняли гематоксилином и эозином и по способу Маллори.

Гистологические препараты приготавливали по стандартной методике, адаптировав ее, в том числе, для костной ткани, включая этап декальцинации. Обработку материала проводили по общепринятым правилам, описанным в руководствах по гистологии.

С целью декальцинации исследуемые фрагменты костной ткани погружали в декальцинирующий раствор «Софтидек» в соотношении объема препарата к объему раствора 1:50. Раз в сутки рабочий раствор меняли, механически контролируя степень декальцинации с помощью иглы. После декальцинации препараты в течение 30 минут отмывали проточной водой для полного удаления

остатков реактива.

Стандартная гистологическая проводка тканей включала последовательное обезвоживание, обезжиривание и пропитывание парафином. Залитые в парафиновые блоки образцы подвергали микротомированию на ротационном микротоме с получением серийных срезов толщиной 5 мкм. Для морфологической оценки срезы окрашивали общегистологическими методами: комбинацией гематоксилина и эозина, а также по методу Маллори (трихромное окрашивание).

Морфометрическое исследование

Для получения объективных количественных данных было выполнено морфометрическое исследование на серии из 30 продольных гистологических срезов пяточных костей. Вначале проводили полную фотофиксацию всех исследуемых срезов с помощью светового микроскопа при стократном увеличении (объектив HC PL FLUOTAR 10×/0,30). Каждое полученное изображение имело цифровое разрешение 2048×1536 пикселей. Для обеспечения репрезентативности данных от каждого гистологического образца формировали серию из десяти последовательных микрофотографий с их последующей нумерацией. На последующем этапе в специально выбранных полях зрения проводили подсчет количества новообразованных кровеносных сосудов, локализованных в зоне энтезиса (объектив HC PL FLUOTAR 20×/0,50). Результат выражали в виде абсолютного показателя — числа сосудов на одно поле зрения.

Анализ проводили в четыре контрольные временные точки, соответствующие 15, 30, 45 и 60 суткам после выполнения оперативного вмешательства.

2.2 Организация клинического исследования

Временные границы исследования охватывают период с 2021 по 2025 г.

Объект исследования: пациенты с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей.

Предмет исследования: оценка эффективности хирургического лечения пациентов с флегмонами конечностей.

Основной клинической базой исследования явился Центральный военный клинический госпиталь им. П.В. Мандрыка Минобороны России (ЦВКГ им. П.В. Мандрыка).

Критерии включения в исследование: наличие бактериальной флегмоны конечностей; отсутствие рентгенологических признаков остеомиелита костей конечностей; согласие пациента в получении нового метода лечения.

При разработке протоколов исследования соблюдались принципы Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (с поправками 2000 года) и «Правила клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ № 226 от 19.06.2003).

Критерии исключения из исследования: генерализация хирургической инфекции (сепсис), гематологические заболевания; онкологическая патология; аутоиммунные нарушения; эндокринные заболевания (включая сахарный диабет); анорексия и дефицит жировой ткани.

2.2.1. Характеристика клинических наблюдений

В исследовании применена следующая модель. Обследованы 105 пациентов с гнойно-септическими осложнениями травм/ранений и острыми гнойными заболеваниями мягких тканей конечностей, проходивших стационарное лечение в хирургическом отделении ЦВКГ им. П.В. Мандрыка МО РФ в период с 2021 по 2025 гг., в возрасте от 20 до 72 лет.

Пациенты, в зависимости от проводимого хирургического лечения на этапе реконвалесценции, были разделены на две, почти равные по численности, группы — I, или группа сравнения (53 человека) и группа II, или основная группа (52 человека). Меньшее (на одного человека) количество пациентов в основной группе обусловлено выявленным в ходе госпитального обследования онкологическим заболеванием, что являлось одним из критериев исключения.

Группу I составили пациенты, которым хирургическое лечение проведено согласно клиническим рекомендациям, включая применение вакуум-аспирационной терапии со 2-х суток послеоперационного периода, последующую иммобилизацию гипсовой лонгетой или ортезом. В Группу II включены пациенты, которым, помимо аналогичных по характеру и объему лечебных мероприятий, по достижении второй фазы раневого процесса, выполняли биоимплантацию стромально-вазкулярной фракции жировой ткани путем инъекций по периметру гранулирующей послеоперационной раны (Рисунок 2.3).



Рисунок 2.3. Дизайн клинической части исследования

В свою очередь, каждая группа разделена на две подгруппы, в зависимости от патогенетического фактора заболевания. В подгруппу "а" каждой группы вошли пациенты с гнойными заболеваниями и гнойно-септическими осложнениями механической травмы мягких тканей конечностей. Соответственно, в подгруппу "б" вошли пациенты с огнестрельной травмой. В результате, подгруппа № 1 а Группы I составила 31 человек (58%), № 1 б – 22 человека (42%), из них 17 (77%) пациентов с минно-взрывной травмой, 5 (23%) – с пулевыми ранениями мягких тканей конечностей; подгруппа № 2 а Группы II – 30 человек (58%), № 2 б – 22 (42%) человека, из них 15 пациентов (68%) с минно-взрывной травмой и 7 пациентов (32%) с пулевыми ранениями мягких тканей

конечностей, соответственно.

У всех 105 пациентов хирургическое лечение флегмоны конечности проводилось операционным доступом в области наибольшей флюктуации, учитывая также результаты ультразвукового исследования и направление проекционных линий, описанных В.К. Гостищевым [35].

В ходе операции соблюдались принципы гнойной хирургии:

1. Оперативные доступы носили анатомичный, физиологичный и косметичный характер.
2. В гнойном очаге вскрывались затеки и фасциальные отрочки, формируя единую полость.
3. Бережное отношение к тканям, ограничивающим гнойную рану.
4. Адекватное дренирование.

Пластическое закрытие ран у пациентов обеих групп выполняли после достижения второй стадии раневого процесса в определенной последовательности, указанной ниже.

В первые сутки всем пациентам была назначена эмпирическая антибактериальная терапия. Препарат выбирали исходя из клинической картины, типичной для предполагаемого возбудителя. В дальнейшем, через двое суток, проводили коррекцию антибактериального лечения с учетом результатов бактериологического исследования отделяемого из операционной раны, включавшего идентификацию микроорганизма и определение его чувствительности к антибиотикам.

Пациентам Группы I, как ранее упоминалась, проводилось хирургическое лечение в необходимом объеме с последующей иммобилизацией гипсовой лонгетой или ортезом заинтересованной конечности.

Пациентам подгруппы №1а группы № I с острыми гнойными заболеваниями и гнойно-септическими осложнениями механической травмы мягких тканей конечностей лечение проводилось инцизионно-дренажным методом. Гнойную рану или очаг хирургической инфекции широко раскрывали,

формируя единую полость, после санации ее дренировали поливинилхлоридными (ПВХ) полутрубками и полосками из перчаточной резины. Полость заполняли водорастворимой мазью на полиэтиленоксидной основе (комбинации полиэтиленоксидов с молекулярным весом 400 и 1500), в состав которых, могут входить различные антимикробные средства, такие, как левомецетин (мазь левосин, мазь левомеколь), диоксидин (5%-ная диоксидиновая мазь, диоксиколь, метилдиоксилин); йод с поливинил-пирролидоном (1%-ная йодопионовая мазь, йодметриксид) [10]. Далее в послеоперационном периоде проводилась иммобилизация ортезом.

Пациентам подгруппы №1б группы № I с гнойно-септическими осложнениями огнестрельной травмы мягких тканей конечностей лечение начиналось с проведения оперативного вмешательства – вторичной хирургической обработки по известным принципам и выполнения вакуум-аспирационной терапии со 2-х суток послеоперационного периода. Во время первой перевязки по медикаментозной седацией в рану устанавливалась вакуум – аспирационная система, состоящая из четырех компонентов – наполнителя (полипеноуретоная губка), непроницаемой пленки – повязки, соединительной трубки с концевым перфорированным дренажом, аппаратом, создающим отрицательное давление [38; 48]. Режим работы вакуумного аппарата – постоянный, с разрежением 120 мм рт.ст. Смена вакуум-аспирационной системы проводилась 1 раз в 3 суток во время расширенной перевязки под медикаментозной седацией в операционной. Послеоперационный период проходил в условиях иммобилизации заинтересованной конечности ортезом. По достижению второй фазы раневого процесса выполнялось пластическое закрытие раны путем наложения ранних вторичных швов или закрытие ран свободными расщепленным перфорированным кожным лоскутом.

Пациентам обеих подгрупп (№2а и №2б) II группы проводилось хирургическое лечение в аналогичной последовательности, как и пациентам подгруппы №1а группы № I с применением инцизионно-дренажного метода, для пациентов подгруппы №1б проведением вакуум-аспирационной терапии со 2-х

суток послеоперационного периода и сменой вакуум-аспирационной системы каждые 3 суток. В послеоперационном периоде в обеих подгруппах группы № II выполнялась иммобилизация гипсовой лонгетой или ортезом заинтересованной конечности.

В ходе лечения у пациентов обеих групп формировались гранулирующие послеоперационные раны.

Определение размеров раневой поверхности на этапе гранулирующей раны проводили с использованием контактного планиметрического метода по способу J.I. Kundin (1989г). Площадь ран варьировала в пределах от 117 мм² до 14 130 мм².

Тактика ведения гранулирующих ран определялась их локализацией и размерами. В 11 случаях из всей когорты пациентов закрытие гранулирующих ран прошло без пластического закрытия ран (в 6 случаях у пациентов Группы I, в 5 случаях у пациентов группы №II) в связи малыми размерами ран. Данные раны зажили через эпителизацию.

Всего выполнено 94 оперативных вмешательства с целью пластического закрытия гранулирующих ран (Таблица 3.1). Использовались два способа оперативного вмешательства: наложение ранних вторичных швов и аутодермопластика расщепленным перфорированным кожным лоскутом. Выбор оперативного вмешательства определялся размерами и локализацией ран на сегментах конечностей. Малоподвижные участки кожного покрова вокруг раны заинтересованного сегмента конечности, близкое расположение гранулирующей раны к суставу конечности исключало возможности наложение вторичных швов.

Таблица 3.1 – Виды оперативных вмешательств, применяемые для пластического закрытия гранулирующих ран в основной и контрольной группах пациентов.

Виды пластического закрытия гранулирующей раны	Группа № I (Группа сравнения)	Группа №II (Основная группа)
Наложение ранних вторичных швов/осложнения	29/0	30/0
Аутодермопластика расщепленным перфорированным кожным лоскутом	17/0	18/0
Итого операций /осложнения	46/0	48/0

Измерение площади гранулирующей раны проводили с момента ее развития, перед пластическим закрытием ее и далее каждые 7 суток до завершения эпителизации раневой поверхности (за исключением ран, закрытых ранними вторичными швами). Конечная контрольная точка исследования – срок наступления эпителизации.

2.2.2. Техника получения СВФ

По достижении второй стадии раневого процесса, подтвержденной исследованием мазка-отпечатка цитологическим методом, отрицательного результата бактериологического исследования посева из раны, проводили под местной анестезией оперативное вмешательство в следующей последовательности: липоаспирация из гипогастральной области живота; обработка липоасpirата для выделения СВФ–ЖТ; биоимплантация стромально-васкулярной фракции жировой аутокани путем инъекций по периметру гранулирующей послеоперационной раны мягких тканей конечностей тем пациентам Группы II, которым планировалось через трое суток закрытие раны наложением ранних вторичных швов. Пациентам Группы II, которым планировалось закрытие гранулирующей раны способом аутодермопластики расщепленным кожным лоскутом, выполняли липоаспирацию, а имплантацию стромально-васкулярной фракции проводили через трое суток после выполнения пластического закрытия раны (купирование ятрогенной реакции).

Пациентам Группы II, которым планировалось закрытие гранулирующей раны способом наложения ранних вторичных швов, липоаспирацию и имплантацию стромально-васкулярной фракции выполняли за трое суток до пластического закрытия раны (купирование ятрогенной реакции).

Ближайшие результаты (от 30 сут до 180 сут) подлежали оценки еще до выписки пациента из стационара. Учету подлежали следующие факторы: сроки эпителизации раны, восстановления функции конечности, наличие и выраженность болевого синдрома, качество жизни. Результаты лечения

оценивали как хорошие, удовлетворительные и неудовлетворительные.

2.2.3. Характеристика методов исследования

В соответствии с разработанным протоколом, при госпитализации выполнялся детальный анализ жалоб больного, принимая во внимание возраст, тщательно собирался анамнез заболевания, осуществлялось клинико-мануальное обследование. Проводился диагностический поиск сопутствующей патологии с определением ее выраженности и степени компенсации, а также проводилось анкетирование.

В первые сутки госпитализации выполняли рентгенографию пораженного сегмента конечности, клинический анализ крови с определением лейкоцитарной формулы и лейкоцитарного индекса интоксикации, уровня С-реактивного белка (при поступлении, на 7-е и 14-е сутки). По клиническим показаниям, выполняли ультразвуковое исследование и мультиспиральную компьютерную томографию поражённого сегмента конечности.

2.2.4. Методика оценки болевого синдрома

Интенсивность боли в повреждённом сегменте конечности оценивали с помощью визуально-аналоговой шкалы (ВАШ) в день госпитализации, а также на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки лечения.

При проведении анкетирования предлагали заполнить пациенту следующие виды шкалы ВАШ: одинарная визуально-аналоговая шкала, которая представляет собой простую горизонтальную линию, в которой пациент делал отметку между утверждением «боли нет» и утверждением «нестерпимая боль»; сопряженная ВАШ, состоящая из шкалы описания степени боли с помощью слов, цифровой рейтинговой шкалы; сравнительная таблица болевых ощущений (модифицированная шкалу Вонга – Бакера) [158].

2.2.5. Лабораторные методы исследований

Лабораторная диагностика включала исследование общеклинических, биохимических и иммунологических показателей крови и мочи.

Основные показатели общеклинического анализа крови получали при помощи автоматического анализатора CELL-DYN Ruby (Abbott, США). Подсчет лейкоцитарной формулы осуществлялся с помощью микроскопии мазков крови, окрашенных красителями из набора Hematek Stain Pak Wright-Giemsa Stain.

Кровь для биохимического исследования исследовали с помощью автоматического биохимического анализатора ARCHИТЕКТ с 4000 и реагентов производства Abbott Diagnostics (США). Определяли в крови содержание глюкозы, общего белка, общего билирубина, мочевины, креатинина, креатинфосфокиназы (КФК), аспартатаминотрансферазы (АсТ) и аланинаминотрансферазы (АлТ).

Исследование иммунологических показателей крови осуществлялось с помощью автоматического иммунохимического анализатора «LIAISON» (Италия), используя реагенты DiaSorin S.p.A. (Италия). Определялось содержание в крови С-реактивного белка.

Забор биоматериала для микробиологического анализа проводили непосредственно после вскрытия гнойной раны. Для этого выполняли мазок из раневой поверхности стерильным ватным тампоном, который затем помещали в транспортную пробирку с питательной средой. Образец доставляли в бактериологическую лабораторию для проведения исследования на определение видового состава микрофлоры и её чувствительности к антибактериальным препаратам. Повторные бактериологические исследования проводили пациентам обеих групп после очищения раневой поверхности и заполнения раневой полости здоровой грануляционной тканью, в объеме предоперационного обследования перед наложением вторичных швов, выполнением аутодермопластики обширных раневых поверхностей и дополнительно пациентам Группы II – перед биоимплантацией стромально–васкулярной фракции жировой аутокани.

Цитологическое исследование

Пациентам обеих клинических групп выполняли цитологический анализ мазков-отпечатков, взятых из раневой поверхности. Полученные препараты окрашивали по методу Романовского–Гимзы с целью определения типа

цитологической картины.

С целью определения количества жизнеспособных ядродержащих клеток в 1 мкл полученной стромально-васкулярной фракции проводился подсчет в камере Горяева с окраской трипановым синим (маркёр мертвых клеток и тканей). Количество ядродержащих клеток насчитывалось до 2×10^6 на 8 мл полученной клеточной суспензии.

2.2.6. Инструментальные методы исследования

Методы лучевой диагностики

Рентгенографию конечностей в двух стандартных проекциях выполняли с помощью дистанционно управляемого цифрового рентгеновского аппарата Siemens «AXIOM ICONOS R 200», снабженного поворотным столом-штативом с углом вращения от -90° до $+90^\circ$. Бесплёночная технология позволяла проводить исследования в режиме реального времени, осуществлять последующую обработку снимков и их архивацию на жёстком диске с разрешением матрицы 1024×1024 . Следует отметить, что рентгенографические проявления хирургической инфекции мягких тканей неспецифичны и слабо выражены. На обзорных снимках конечностей, как правило, визуализируются отёк мягких тканей, нечеткость жировых прослоек, утолщение прилежащей жировой клетчатки и периостальная реакция. Скопление газа в тканях является редким диагностическим признаком.

Ультразвуковое исследование проводится мягких тканей конечностей проводили на аппарате PHILIPS Affini 7.50 с использованием линейного датчика L 12–5 в В-режиме. Общеизвестны преимущества ультразвуковой диагностики хирургической инфекции конечностей: детальная визуализация патологического очага в мягких тканях конечности, что невозможно при рентгенологическом исследовании; исследование мягких тканей проводится как в статическом положении, так и в динамическом варианте; современные ультразвуковые аппараты обладают высокой разрешающей способностью, равной МРТ, что позволяет визуализировать мелкие элементы структуры мягких тканей на

субмиллиметровом уровне с возможностью динамической визуализации анатомических структур, что отличает его от статичного метода компьютерной томографии.

При проведении УЗИ сегмента конечности определяли подкожный отек сегмента (целлюлит), миозит, гиперинтенсивное скопление жидкости, кровоизлияния, выявляли отек между мышцами в проекции фасций сегмента конечности [96]. Выполнение ультразвукового исследования скомпрометированного сегмента конечности считали обязательным для своевременной диагностики развития компартмент-синдрома: в ходе исследования визуализируется скопление патологической жидкости в глубоком межмышечном фасциально-клетчаточном пространстве (Рисунок 2.4). Исследования проводили (по возможности) в сравнении с мягкими тканями здоровой конечности.

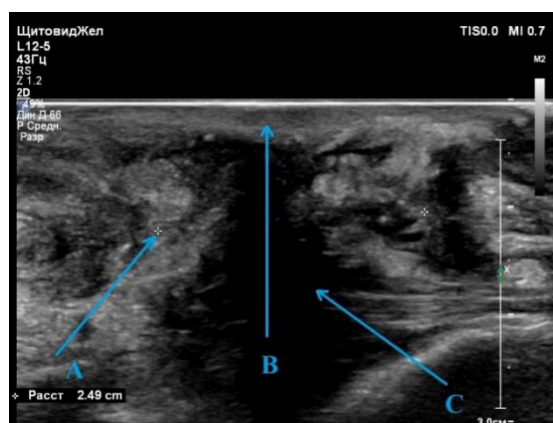


Рисунок 2.4. Пациент М. УЗ признаки компартмент-синдрома правой голени. а) выраженный отек подкожной клетчатки. б) миозит. в) скопление патологической жидкости между мышцами в проекции фасций правой голени

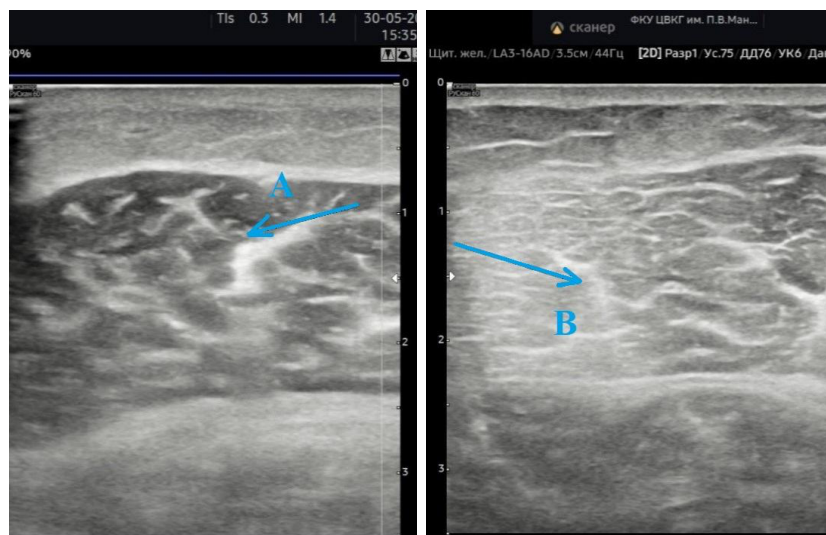


Рисунок 2.5. Пациент М. Компаратмент-синдром правой голени. А. Выраженный миозит правой голени. В. Нормальная структура мышечной ткани левой голени

2.2.7. Оценка качества жизни

В послеоперационном периоде на 30-е, 90-е, 180-е сутки проводили оценку качества жизни пациентов с использованием краткой формы опросника SF-36 («Medical Outcomes Study: 36-Item Short Form Health Survey»), русскоязычная версия [101]. Опросник включает 36 пунктов, сгруппированных в 8 шкал: физическое функционирование, ролевая деятельность, телесная боль, общее здоровье, жизнеспособность, социальное функционирование, эмоциональное состояние и психическое здоровье. Показатели каждой шкалы варьируют от "0" до "100", где 100 – полное здоровье. В итоге все шкалы формируют два показателя: «физический компонент здоровья» и «психологический компонент здоровья». Результаты представляются в виде оценок в баллах: более высокая оценка указывает на более высокий уровень качества жизни.

2.2.8. Микробиологическое исследование

При первичном бактериологическом исследовании определено, что при острых гнойных заболеваниях и гнойно-септических осложнениях механической травмы мягких тканей конечностей доминирующим возбудителем является золотистый стафилококк (*S. Aureus*), который высеивался в 37 случаях (44,8%). Второе место занимает эпидермальный стафилококк (*S. Epidermidis*),

определяемый в 13 случаях (12,4%),

Пиогенный стрептококк (*S. Pyogenes*), идентифицированный в 8 случаях (7,6%). Синегнойная палочка (*Ps. Aeruginosa*) высеяна в 3 случаях (2,9%). При первичном бактериологическом исследовании у пациентов с огнестрельной травмой мягких тканей конечностей микробный пейзаж ран был иной. В 10 случаях (9,5%) идентифицировалась монокультура золотистый стафилококк (*S. Aureus*) с множественной устойчивостью к антибиотикам (MRSA), в 34 случаях выявлены полимикробные ассоциации грамположительных кокков (*S. Aureus*) и грамотрицательных палочек (*E. faecium*, *Kl. pneumoniae*, *Ac. baumannii*, *Ps. Aeruginosae*) с множественной устойчивостью к антибиотикам. В последующих микробиологических исследованиях регистрировалась элиминация возбудителя хирургической инфекции до уровня стерильной раны в 13 случаях (12,4%), в 31 случае (29,5%) регистрировалась микробная контаминация бактериями сапрофитами (*E. coli*, *S. Epidermidis*) в 10^3 КОЕ /мл.

Для характеристики процесса заживления раны использовалась классификация течения раневого процесса (Кузин М.И., 1977).

2.2.9. Функциональные исследования

Определение размеров раневой поверхности на этапе гранулирующей раны проводили пациентам обеих групп с использованием контактного планиметрического метода по способу J.I. Kundin (1989г). Измеряли обычной линейкой из пластика длину и ширину раны таким образом, чтобы эти величины были наибольшими и располагались по перпендикулярным осям. Расчёт площади раны проводили по формуле:

$$S \text{ раны} = L \times W \times 0,785,$$

где L – длина раны, W – ширина раны; 0,785 – постоянный коэффициент.

Оценку функционального состояния кисти проводили путём анализа хватательных движений и способности удерживать предметы различной формы (плоские, цилиндрические, шаровидные), а также посредством измерения мышечной силы, общей подвижности кисти и объёма движений в суставах

пальцев. Полученные данные сравнивали с аналогичными показателями, зарегистрированными на здоровой конечности. Полученные результаты сравнивали с показателями здоровой кисти. Определение функции конечности проводили путем измерения амплитуды движений сустава в угловых градусах (Постановление Правительства Российской Федерации от 04.07 2013г. № 565), определения гипертонуса мышц, контрактуры смежных суставов, наличия выраженных болевых «триггерных» зон, типа послеоперационных рубцов.

Критерии удовлетворительного исхода лечения:

Для хирургической инфекции кисти:

- Нарушение хватательной функции, в виде уменьшения объёма движений, не более чем на 50%.
- Период сохранения зон с умеренным болевым синдромом («триггерных» зон) в течение не более 30 суток.
- Наличие нормотрофического рубца шириной до 2 мм.

Для хирургической инфекции других сегментов конечности:

- Ограничение амплитуды движений в суставах не более чем на 50% от нормальных значений.
- Образование 1–2 переходящих «триггерных» зон в одном из сегментов конечности с продолжительностью не более 6 месяцев.
- Наличие нормотрофического или гипертрофического рубца шириной от 0,5 до 1,0 см.

Критерии неудовлетворительного исхода (для кисти):

- Формирование стойких контрактур суставов в области кисти.
- Грубая деформация кисти из-за гипертрофических рубцов с сохранением менее 50% объёма движений. Сохранение менее 50% нормальной амплитуды движений в суставах конечности, сохранение «триггерных» зон с постоянным болевым синдромом и выраженным чувством дискомфорта в области оперативного вмешательства.

При наличии указанных признаков результат лечения оценивался как неудовлетворительный [71].

Анализ ближайших результатов лечения, проведённый методом анкетирования пациентов с использованием опросника «Оценка качества жизни», продемонстрировал более положительные результаты в группе пациентов, получивших комбинированное лечение, включающее оперативное вмешательство, антибактериальную, детоксикационную гастропротективную терапию, местное лечение раны с использованием терапии раны отрицательным давлением (VAC-therapy), клеточных технологий в виде биоимплантации клеточного концентрата жировой ткани, стромально-васкулярной фракции (СВФ-ЖТ) путем инъекций по периметру гранулирующей послеоперационной раны мягких тканей конечностей.

2.3. Статистические методы обработки данных

Анализ полученных данных осуществлялся с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и программного комплекса для статистического анализа Statistica 10 for Windows (StatSoft Inc., USA).

Сбор первичных данных, их корректировка и систематизация, визуализация результатов выполнялись с помощью электронных таблиц Microsoft Office Excel 2016.

Количественные показатели описывались с использованием следующих статистических метрик: количество наблюдений (n), среднее арифметическое значение (M), стандартное отклонение (σ), медиана, 25-й и 75-й квартили.

Качественные показатели описывались с использованием абсолютных и относительных частот (в процентах). Статистическая значимость различий устанавливалась при уровне $p < 0,05$.

Для статистической обработки данных применялись следующие методы:

Критерий χ^2 (хи-квадрат) Пирсона,

Двусторонний z-критерий для сравнения долей,

Парный и непарный t-критерий Стьюдента.

В случаях, когда распределение переменных в выборках отклонялось от нормального, применялись непараметрические критерии: Манна — Уитни и критерий знаковых рангов Вилкоксона. Взаимосвязь между показателями

оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену.

Данные из протоколов вручную вводились в персональный компьютер с осуществлением программного и визуального контроля их полноты, соответствия допустимым диапазонам значений, логической и медицинской согласованности. Обнаруженные в ходе проверки ошибки подлежали исправлению.

Статистическая проверка достоверности выявленных закономерностей и гипотез выполнялась с помощью сравнения полученного уровня значимости (p) с пороговым показателем (0,05). Различия были статистически значимыми, а значит и гипотеза достоверной при значениях $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ СТРОМАЛЬНО–ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ В СТАДИИ РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ

3.1 Схема экспериментального исследования

Исходная совокупность лабораторных животных (n=72) была разделена на две неравные группы, сопоставимые по основным биометрическим показателям (возраст, масса тела), но различающиеся по характеру экспериментального воздействия.

На 12 особях (на обеих задних конечностях, т.е. n=24) была отработана модель инфицированной раны с вовлечением пяточного сухожилия. Создание одновременного повреждения обеих конечностей преследовало цель исключить влияние адаптивности животных, способных переносить вес тела на здоровую конечность, тем самым "искажая" полученный результат и его интерпретацию.

Еще на 12 крысах – технология получения и культивирования ММСК из висцерального жира.

Далее, после отработки этих методик, из остальных 48 особей были сформированы две равные группы по 24 животных: в контрольной группе (n=24) было выполнено первично-инфицированное открытое повреждение левого пяточного сухожилия по типу ранее разработанной модели; в основной группе (n=24) выполняли аналогичную по характеру операцию на правой задней конечности, в дополнение к которой осуществляли инъекцию ММСК в зону повреждения пяточной кости.

Животных выводили из эксперимента в сроки от 15 до 60 суток с равными интервальными периодами в 15 суток (таблица 3.1).

Протокол анестезиологического обеспечения был унифицирован для обеих групп животных.

Таблица 3.1 – Этапы экспериментального исследования

Этап	Количество животных без ММСК / с ММСК	Сутки выведения из эксперимента
I	6 / 6	15
II	6 / 6	30
III	6 / 6	45
IV	6 / 6	60

В ходе анализа результатов учитывали, как межгрупповые, так и внутригрупповые различия. Для проведения дисперсионного и регрессионного анализа осуществлялось объединение данных из разных групп с целью формирования укрупненных градаций факторов экспериментального воздействия однородной природы и оценки степени их влияния на исследуемые результирующие признаки.

3.2. Моделирование первично-инфицированного открытого повреждения пяточного сухожилия

Процедура моделирования первично-инфицированного открытого повреждения пяточного сухожилия включала несколько последовательных этапов. После взвешивания животному проводили общую анестезию внутримышечным введением препарата «Золетил 100» из расчета 20 мг на кг массы тела.

Для подготовки операционного поля шерстный покров правой задней конечности удаляли с помощью одноразовой бритвы. Животное фиксировали в положении на животе, обеспечивая полный доступ к проекции пяточной кости. Учитывая необходимость моделирования инфицированной раны, кожный покров в зоне предполагаемого вмешательства антисептическим раствором не обрабатывали.

Хирургический доступ осуществляли через полулунный разрез по латеральной поверхности стопы, выполненный брюшистым скальпелем. Методом гидропрепаровки послойно выделяли анатомическую зону прикрепления

пяточного сухожилия к пяточному бугру (энтезис). Непосредственное дозированное повреждение моделировали с помощью многолезового микрохирургического скальпеля специальной конструкции (патент на изобретение РФ № 2779405). Под визуальным контролем наносили серию из десяти параллельных линейных разрезов, строго ориентированных по ходу волокон сухожилия.

Оперативное вмешательство завершали однократным промыванием физиологическим раствором и реконструкцией операционной раны путем ушивания краев кожной раны наводящими швами рассасывающимся синтетическим материалом (Викрил 5–0) с сохранением диастаза до 0,2 см между краями послеоперационной раны.

3.3. Критерии оценки эффективности лечения открытого инфицированного повреждения пяточного сухожилия у экспериментальных животных

Эффективность проводимого лечения оценивали по ряду поведенческих и локальных признаков в ходе всего эксперимента.

Общее состояние животных. Оценка носила субъективный характер и основывалась на анализе поведенческих реакций на стандартные внешние стимулы, в частности, на двигательную и пищевую активность.

Двигательная возбудимость. Анализировали характер и интенсивность активных движений животного в ответ на перемещение клетки, восстановление опороспособности поврежденной конечности, акустические, визуальные и обонятельные раздражители.

Пищевая возбудимость. Оценивали по количеству корма, потребляемого животным в течение суток (кормление грызунов, осуществляется по принципу всеядности, норма 100 граммов общего рациона на 1 кг массы тела) в сутки. Критерием отсутствия генерализации инфекционного процесса и системного воспалительного ответа служило суточное потребление пищи, сопоставимое с дооперационными показателями.

В ходе наблюдения за животным внимание уделялось появлению признаков инфекционно-воспалительного процесса в области послеоперационной раны: гиперемия, отек кожного покрова, серозный экссудат – рассматривались как течение процесса, соответствующее запланированной экспериментальной модели.

3.4. Оценка результатов трансфекции

Оценку эффективности трансфекции проводили через 72 часа после введения плазмидной конструкции в культуральную систему. При флуоресцентной микроскопии в клеточной культуре идентифицировали популяцию фибробластоподобных клеток, экспрессирующих зеленый флуоресцентный белок (Рисунок 3.1). Доля GFP-позитивных клеток достигала 30% от общего клеточного пула. Трансфецированные клетки сохраняли морфологические характеристики исходной культуры, представленной преимущественно полигональными и веретеновидными клетками с умеренной степенью отростчатости.

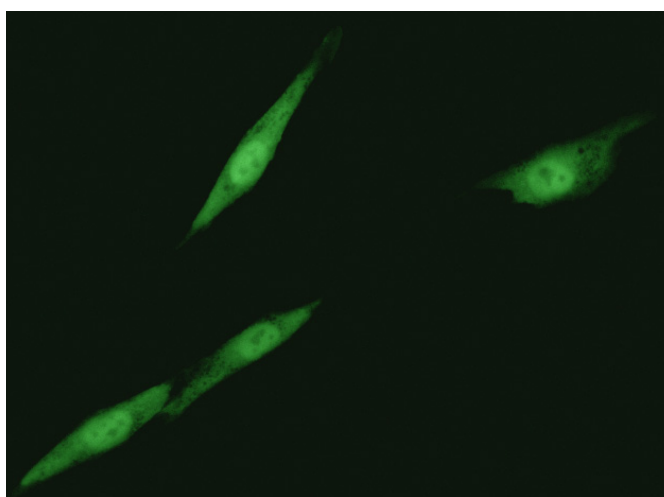


Рисунок 3.1. Флуоресцентная микроскопия. Культура ММСК крысы, экспрессия GFP. Увеличение $\times 200$.

3.5. Модель первичной инфицированной раны, 3-и сутки после дозированного механического повреждения пяточного сухожилия

Оценку созданной модели первичной инфицированной травматической

энтезопатии (n=12; 24 конечности) проводили через 72 часа после нанесения повреждения. К концу 3-х суток в области энтезиса пяточной кости наблюдалось разволокнение фибриллярных структур плотной волокнистой соединительной ткани в виде отдельных пучков, тянущихся до зоны перехода неминерализованных участков фиброзно-хрящевой ткани в минерализованные («граница прилива») с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией. Сосуды связки были полнокровны, а в мелких сосудах определялось сладжирование эритроцитов. (Рисунок 3.2). Признаков деструкции костной ткани выявлено не было.

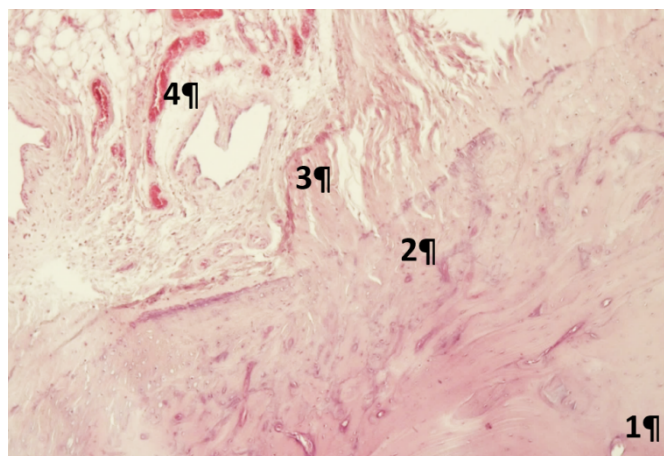


Рисунок 3.2. Место прикрепления сухожилия к пяточной кости через 3 суток после повреждения: пластинчатая костная ткань (1); «граница прилива» фиброзно-хрящевой ткани с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (2); ткань вплетающегося сухожилия (3), полнокровные кровеносные сосуды (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

При сравнительном анализе в 3-и сутки принципиальных различий между изменениями в разных топографических зонах (области левой и правой пяточных костей) выявлено не было. Наличие умеренной лейкоцитарной реакции во всех случаях указывало на относительно умеренную степень повреждения тканей.

Следует отметить, что коллагеновые волокна в области вплетения пяточного сухожилия отличались более выраженной структурной организацией и меньшей клеточной плотностью (рисунки 3.3, 3.4).

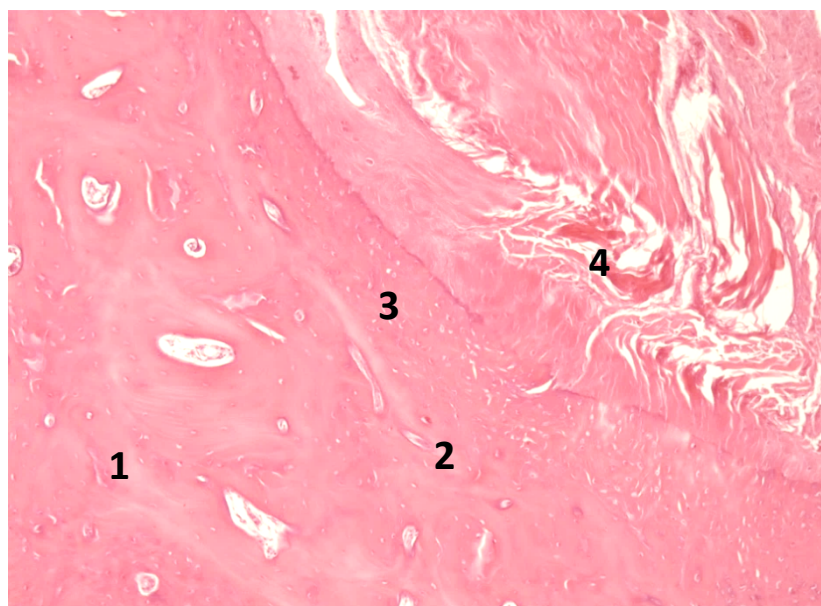


Рисунок 3.3. Область прикрепления сухожилия к левой пяточной кости, через 3 суток после операции: пластинчатая костная ткань (1); ретикулофиброзная костная ткань (2); фиброзная хрящевая ткань с умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (3); травмированная область – зона максимального повреждения (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

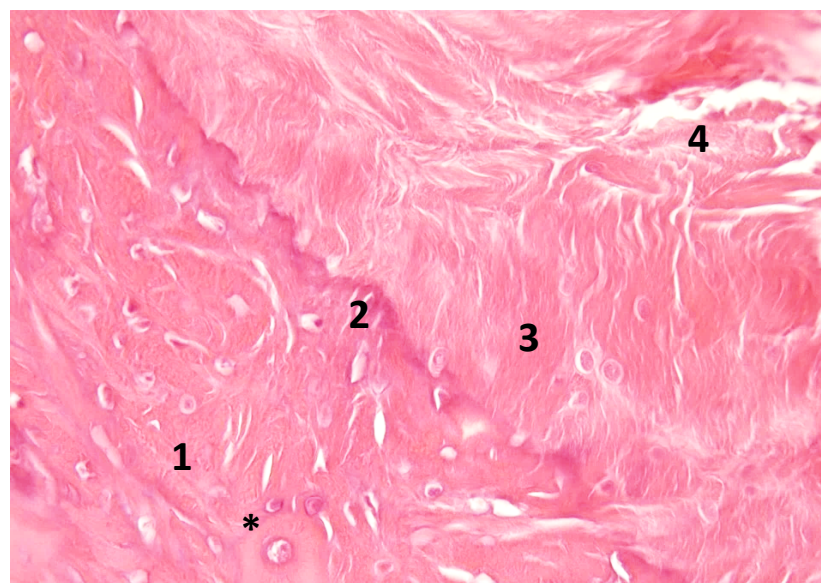


Рисунок 3.4 Область прикрепления сухожилия к правой пяточной кости через 3 суток после повреждения: фиброзная хрящевая ткань (1) с включениями пластинчатой костной ткани и умеренно выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (*); граница минерализации (2); плотная оформленная волокнистая соединительная ткань (3); зона оперативного вмешательства (4). Увеличение: $\times 200$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

3.6 Гистологическое исследование

3.6.1. 15-е сутки после первичного инфицированного открытого дозированного механического повреждения

К 15-м суткам зона первоначального повреждения практически перестала определяться и в контрольной, и в опытной группе. Связочный аппарат представлял собой оформленную волокнистую соединительную ткань без воспалительной инфильтрации. В соединительной ткани обнаруживались участки реактивных изменений, характеризующиеся сосудистой реакцией в виде умеренного ангиогенеза с полнокровными кровеносными сосудами и реактивным остеогенезом, с расширением остеонных структур в проекции области повреждения (Рисунок 3.5). Необходимо отметить, что в последних изменениях расширенные внутренние пространства гаверсовых каналов содержали толстостенные кровеносные сосуды и богатую фибробластами ткань (Рисунок 3.5).

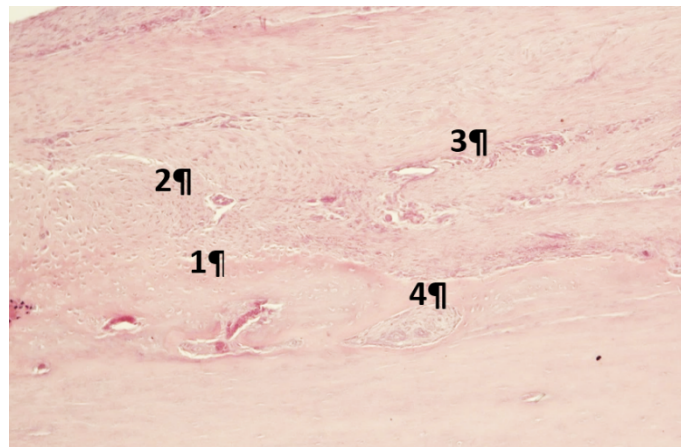


Рисунок 3.5. Область прикрепления сухожилия к левой пяточной кости через 15 суток после повреждения: фиброзная хрящевая ткань (1); новообразованный костно-хрящевой экзостоз (2); полнокровные кровеносные сосуды (3); расширенный канал первичного остеона, заполненный реактивно-изменённой соединительной тканью (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

Через две недели после начала эксперимента у животных опытной группы определялись такие же гистологические изменения, что и у животных контрольной группы, в соответствии с общими закономерностями регенеративного гистогенеза после механического повреждения. Однако

выраженность этих изменений имела существенные различия. В опытной группе не было зоны избыточного разрастания грануляционной ткани, а также участков реактивного остеогенеза. Коллагеновые волокна сухожилия в виде пучков были чётко организованы и не имели признаков отёка. Новообразованный матрикс создавал структуру фиброзно-хрящевого регенерата, при этом не было признаков резорбции костной ткани. (Рисунок 3.6).

Особое значение играло изучение изменений в области инъекции ММСК.

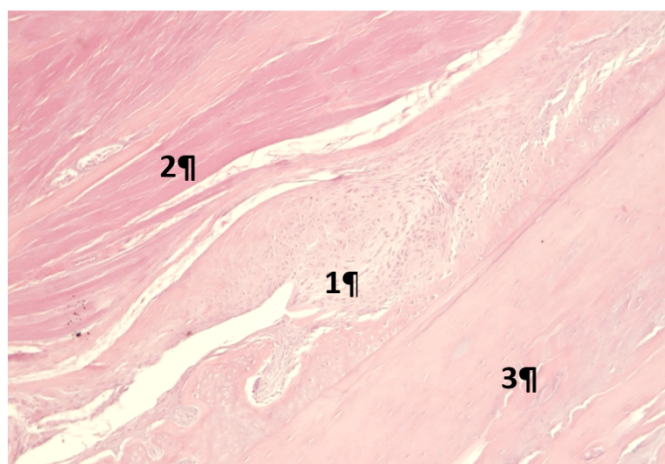


Рисунок 3.6. Область прикрепления сухожилия к правой пяточной кости через 15 суток после механического повреждения: фиброзная хрящевая ткань (1); плотная оформленная волокнистая соединительная ткань (2); пластинчатая костная ткань (3). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

Стандартное окрашивание гематоксилином и эозином не позволяло увидеть введённые меченые клетки. Ни морфология, ни особенности распределения не выделяли их в структуре регенерата. Однако иммуногистохимическое исследование с детекцией GFP позволило выявить трансплантированные клетки, которые были рассеяны по тканям энтезиса. К этому сроку наблюдения меченые ММСК оказались интегрированы в ткань и приобрели фенотип, характерный для фиброцитов плотной волокнистой соединительной ткани и одиночных хондроцитов фиброзного хряща. Определялось чередование меченых и немеченых клеток, создавая мозаичный рисунок. Меченые клетки обычно располагались небольшими группами, что, вероятно, было связано с их одномоментным попаданием в данный участок ткани, либо с их пролиферацией после трансплантации в зону посттравматической регенерации. Матрикс между

мечеными клетками говорит об их продуктивном участии в регенерации, в виде синтеза хондроцитов, характерных для хрящевой ткани (Рисунок 3.7).

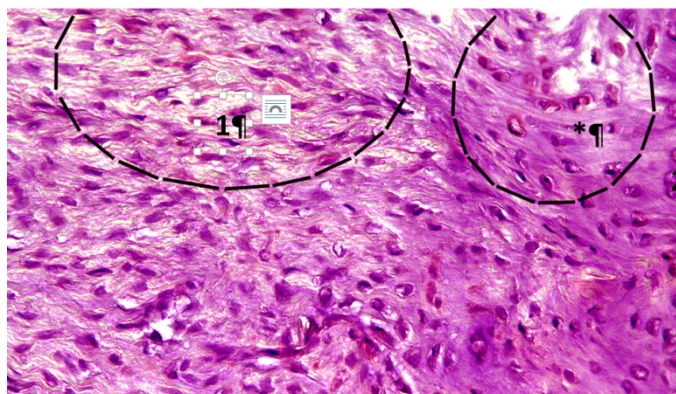


Рисунок 3.7. Основная группа. Область регенерации через 15 суток: GFP⁺ клетки в волокнистой соединительной ткани (1); группа GFP⁺ хондроцитов (2 и *). Увеличение: ×200. Иммуногистохимическая реакция с антителами к GFP с докраской гематоксилином.

3.6.2. 30-е сутки после дозированного механического повреждения

У животных контрольной группы через 30 суток в области повреждения связочный аппарат состоял из оформленной плотной волокнистой соединительной ткани с очагами разволокненных фибриллярных структур и множеством фибробластов. В окружающих энтезис тканях визуализировались фрагменты пластинчатой костной ткани, с полнокровными кровеносными сосудами, расположенными в гаверсовых каналах (Рисунок 3.8).

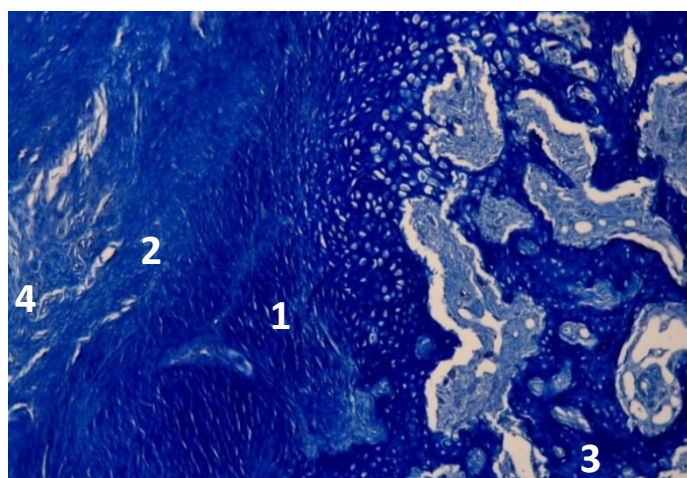


Рисунок 3.8. Структура регенерата через 30 суток после повреждения в области левой пяточной кости: фиброзная хрящевая ткань (1); оформленная плотная

волокнистая соединительная ткань (2); ретикулофиброзная костная ткань (3); область регенерации (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: трихром по Маллори.

Местами определялись участки регенерации в виде рыхлой соединительной ткани (Рисунок 3.9). Воспалительной инфильтрации не было.

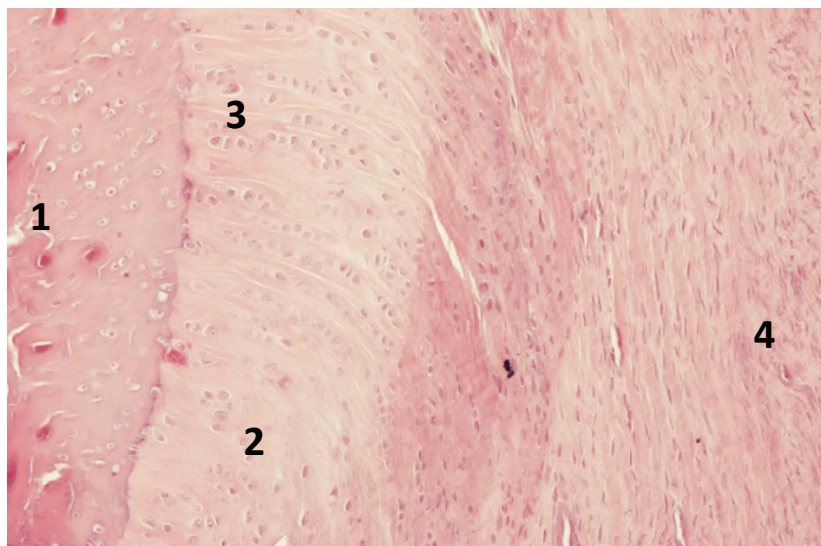


Рисунок 3.9. Область прикрепления сухожилия к левой пяточной кости через 30 суток после повреждения: костная ткань (1); хрящевая ткань (2); хондроцитарные пролифераты — «монетные столбики» (3); оформленная плотная соединительная ткань (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: гематоксилином, эозином.

Как у животных контрольной группы, в опытной группе зона повреждения к 30-м суткам становилась фиброзным регенератом (Рисунок 3.10).

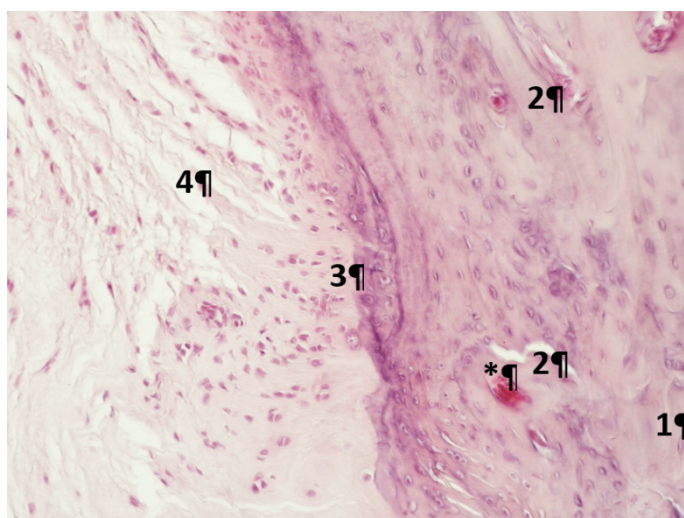


Рисунок 3.10. Зона энтезиса правой пяточной кости через 30 суток после операции: костная ткань (1); гаверсовы системы (2) с полнокровными кровеносными сосудами (*); фиброзная хрящевая ткань (3); плотная соединительная ткань с разволокнёнными фибриллами (4). Увеличение: $\times 200$.

Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

В то же время строение и упорядоченность коллагеновых волокон указывают на то, что регенерация при внесении в область повреждения культуры ММСК, протекала активной (Рисунок 3.11): оценка упорядоченности коллагеновых волокон по шкале Bonar 1,4, в отличие от группы контроля, где соответствующий показатель составил 2,2 ($p < 0,01$). Кроме того, внимание привлекали группы кровеносных сосудов, образовавшихся в толще соединительнотканых элементов регенерата в значительно большем количестве, в сравнении с группой контроля.

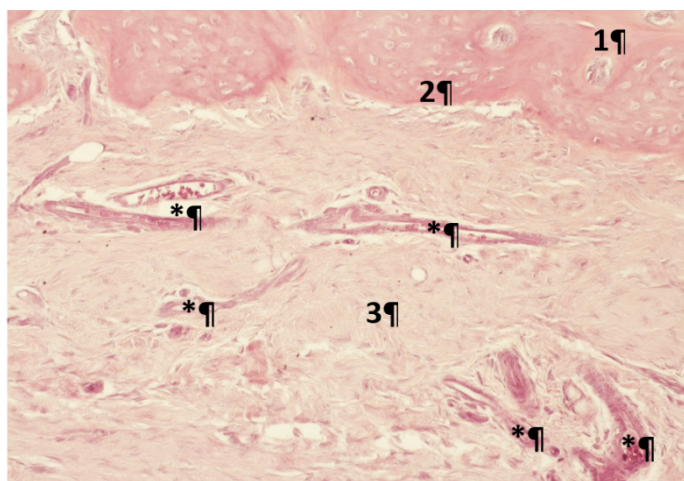


Рисунок 3.11. Интенсивный неоангиогенез в области повреждения правой пяточной кости через 30 суток: пластинчатая костная ткань (1); фиброзная хрящевая ткань (2); плотная волокнистая соединительная ткань (3), пронизанная новообразованными кровеносными сосудами (*). Увеличение: $\times 200$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

3.6.3. 60-е сутки после дозированного механического повреждения

К 60-м суткам после дозированного механического повреждения у животных контрольной группы место оперативного вмешательства в области энтезиса не определялось. Связка представляла собой волокнистую соединительную ткань с плотно упакованными коллагеновыми волокнами (оценка упорядоченности коллагеновых волокон по шкале Bonar 1,6) и

единичными включениями жировой ткани (Рисунок 3.12). Костно-хрящевые части регенерата имели характерное послойное строение: сверху пяточная кость была покрыта хрящевой тканью, в которую вплетались волокна сухожилия (Рисунок 3.13). Явления характерные для воспалительной реакции не определялись.

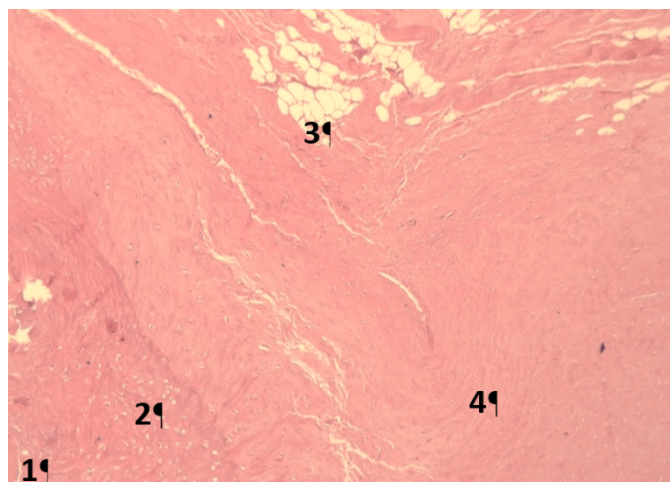


Рисунок 3.12. Зона энтезиса левой пяточной кости через 60 суток после операции: костная ткань смешанного строения (1); хрящевая ткань с неупорядоченными хондроцитами (2); жировая ткань (3); соединительная ткань плотная с плотноупакованными коллагеновыми волокнами (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

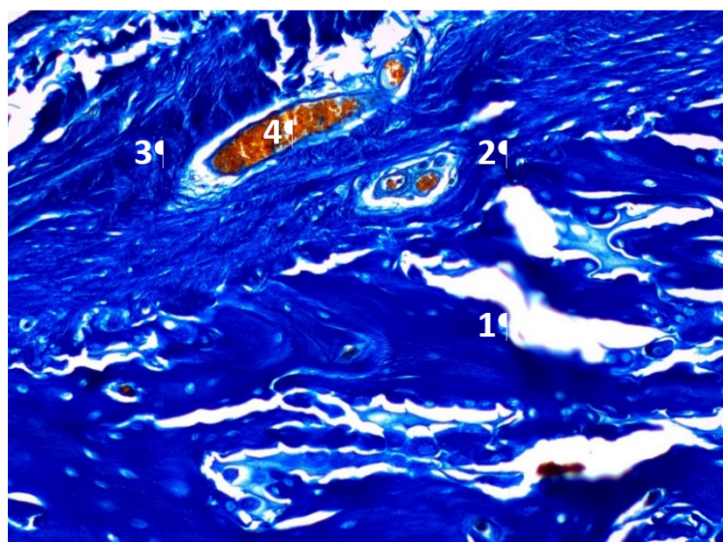


Рисунок. 3.13. Место фиксации сухожилия левой пяточной кости через 60 суток после операции: пластинчатая костная ткань (1); фиброзная хрящевая ткань (2); плотная волокнистая соединительная ткань (3); полнокровные кровеносные сосуды (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: трихром по Маллори.

Через 60 суток в опытной группе животных структура регенерата в области нанесенного механического повреждения была более организованной по

сравнению со структурой регенерата в контрольной группе (оценка упорядоченности коллагеновых волокон по шкале Bonar 0,8). Плотные коллагеновые пучки волокнистой оформленной соединительной ткани были прочно внедрены в структуру фиброзного хряща, покрывающего поверхность кости в области энтезиса (Рисунок 3.14).

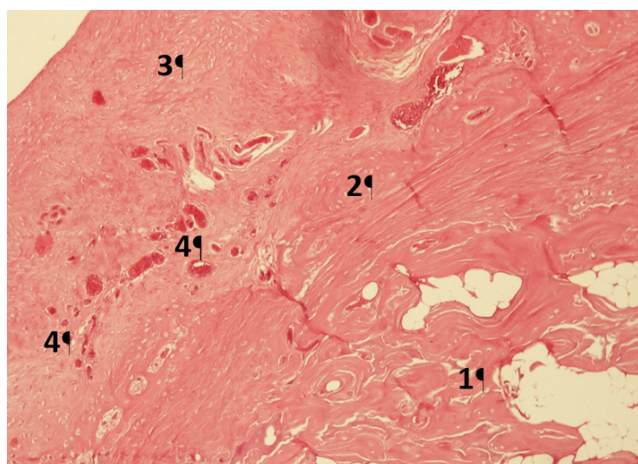


Рисунок 3.14. Энтезис правой пяточной кости с активным неоангиогенезом через 60 суток после операции: пластинчатая костная ткань (1); фиброзная хрящевая ткань (2); плотная волокнистая соединительная ткань (3), пронизанная группами кровеносных сосудов разного калибра (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: гематоксилин, эозин.

Костная часть регенерата имела в основном пластинчатую структуру, с участками жировой ткани и костного мозга в интратрабекулярных пространствах (Рисунок 3.15).

Отличительная особенность основной группы заключалась в наличии большого числа групп новообразованных полнокровных кровеносных сосудов разного калибра, пронизывающих фиброзный регенерат непосредственно возле «границы прилива» — переходной области между минерализованным и неминерализованным частями фиброзного хряща. Как и в контрольной группе, признаков воспалительной инфильтрации выявлено не было.

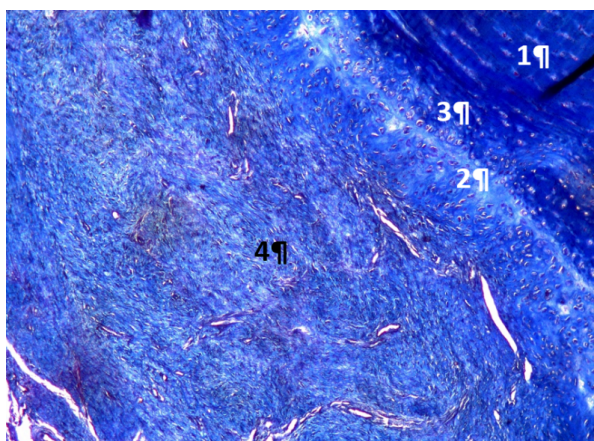


Рисунок 3.15. Сухожилие правой пяточной кости через 60 суток после механического повреждения: костная ткань (1); зона минерализации (2); фиброзная хрящевая ткань (3); соединительная ткань плотная с упорядоченными волокнами коллагена (4). Увеличение: $\times 100$. Окраска препарата: трихром по Маллори.

Медиана новообразованных сосудов в одном поле зрения гистологического препарата опытного животного к 30-м суткам составляла 11, против 5 в контрольной группе, то есть более чем в 2 раза больше. Этот же тренд сохраняется и к 60-м суткам (рисунки 3.16, 3.17).

Среднее количество сосудов в 1 поле зрения гистологического препарата на 30 сутки составляло 9 в основной группе, против 4 в группе контроля, со сохранением тренда к 60 суткам.

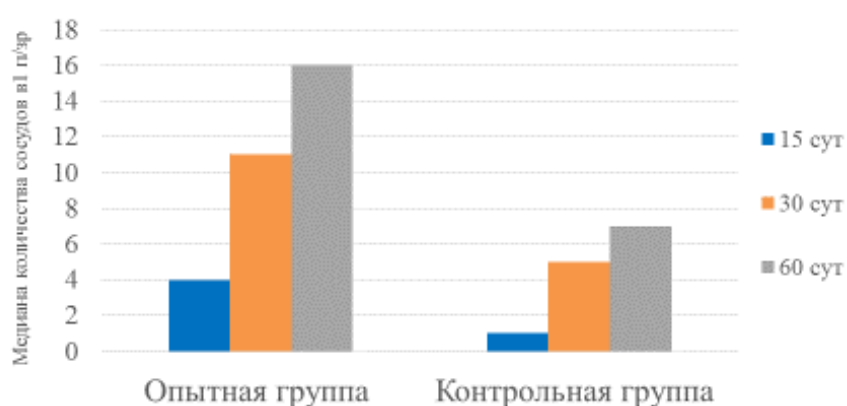


Рисунок 3.16. Медиана встречаемости кровеносных сосудов в фиброзном регенерате животных опытной и контрольной групп.

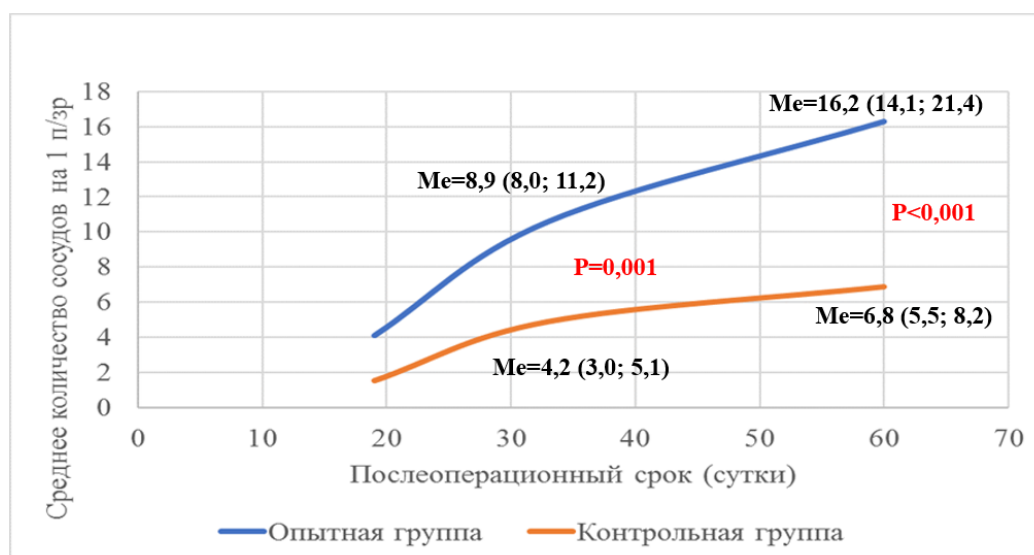


Рисунок 3.17. Динамика неоангиогенеза в фиброзном регенерате.

Проведенная суммарная оценка по шкале Bonar в опытной и контрольной группах, основанная, в первую очередь, на критериях упорядоченности коллагеновых волокон и ангиогенеза,

В целом, можно заключить, что значимое восстановление соединительной ткани ахиллова сухожилия наблюдалось уже к 30-м суткам после операции и в контрольной группе животных, и в группе с трансплантацией ММСК. В то же время морфологические характеристики фиброзного регенерата, такие как плотность упаковки и упорядоченность коллагеновых волокон, состояние кровоснабжения в области повреждения в опытной группе, указывают на положительное влияние клеточной культуры, введённой в область искусственно созданного дефекта.

Результаты морфометрического анализа соответствуют данным гистологического исследования. Исследование показало, что с 15-х суток послеоперационного периода количество новообразованных кровеносных сосудов в области искусственно созданного дефекта было в два раза больше у животных опытной группы. Интенсивный ангиогенез подтверждает эффективность стимуляции регенерации связочного аппарата с помощью трансплантации ММСК в область повреждения.

Таким образом, разработанная модель первично-инфицированной раны с

вовлечением пяточного энтеза у крысы может быть использована для исследования процессов заживления поврежденных мягких тканей конечности в эксперименте, так как она проста в исполнении, воспроизводима, экономична и приводит к стабильно прогнозируемому результату.

Проведенное экспериментальное исследование расширяет существующие взгляды на механизмы участия ММСК в процессах регенерации, показывая их активность в посттравматическом заживлении *in vivo*, а не только в условиях искусственной культуральной среды. Технология получения мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток из стромально-васкулярной фракции жировой аутокани создает обоснованные предпосылки для продолжения исследований с целью применения в клинической практике.

ГЛАВА 4. МЕТОДИКА ПРИМЕНЕНИЯ СТРОМАЛЬНО–ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ МЯГКИХ ТКАНЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ

По достижении второй стадии раневого процесса, подтвержденной исследованием мазка-отпечатка цитологическим методом (регенеративно-воспалительный тип цитограммы), отрицательного результата бактериологического исследования посева из раны, пациентам Группы II проводилось оперативное вмешательство под местной анестезией: липоаспирация из гипогастральной области живота, обработка липоасpirата для выделения СВФ–ЖТ и ее биоимплантация путем интрадермальных инъекций по периметру гранулирующей послеоперационной раны мягких тканей конечностей.

Пациента осматривал пластический хирург и планировалось оперативное вмешательство в операционной ЦВКГ им. П.В. Мандрыка.

Пациентам Группы II, которым закрытие гранулирующей раны выполняли способом наложения ранних вторичных швов, липоаспирацию и имплантацию СВФ–ЖТ проводили за трое суток до пластического закрытия раны. В свою очередь, пациентам этой группы, у которых планировалось закрытие гранулирующей раны расщепленным кожным лоскутом, липоаспирацию и имплантацию аутологичной СВФ–ЖТ выполняли через трое суток после пластического закрытия раны. Обозначенная отсрочка биоимплантации (3 суток в ту или иную сторону) связана с профилактикой вероятной реакции, вызванной отеком тканей.

Этапы приготовления СВФ-ЖТ

Общие сведения.

Далее описаны ключевые этапы процедуры липоаспирации с последующей подготовкой аутологичной жировой ткани для выделения СВФ-ЖТ на примере экстракции стандартной порции липоасpirата (30 мл) из гипогастральной области живота.

Техническое оснащение оперативного вмешательства осуществлялось системой Arthrex ACP SVF с двойным шприцем. Методика заключается в

получении СВФ-ЖТ путем механического отделения адипоцитов, после чего регенеративные клетки в ее составе суспензируются в виде осадка. Суть операции заключается в аспирационном извлечении подкожной жировой ткани, проводимом под местной тумесцентной инфильтрационной анестезией. Идея состоит в использовании большого объема разбавленного раствора адреналина, который проникает в целевой жировой отсек перед липоаспирацией, вызывая отек и упругость донорской зоны. Возникающее набухание подкожной жировой ткани обеспечивает повышенную точность липоаспирации и сводит к минимуму послеоперационную «волнистость» кожи. Вазоконстрикция, вызванная адреналином, предупреждает развитие кровопотери, появления кровоподтеков и послеоперационных болей.

В качестве донорского участка использовали гипогастральную область живота. Дополнительный объем жировой ткани, при необходимости, получали также из нижнебоковых отделов живота.

После антисептической обработки и обкладывания операционного поля стерильным бельем выполняли инфильтрацию кожи в боковой области живота раствором лидокаина 2%–4,0 мл. По достижении анестезии выбранного участка кожи передней брюшной стенки, остроконечным скальпелем делают прокол кожи и выполняют тумесцентную анестезию (Рисунок 4.1) подкожно-жирового слоя гипогастральной области живота

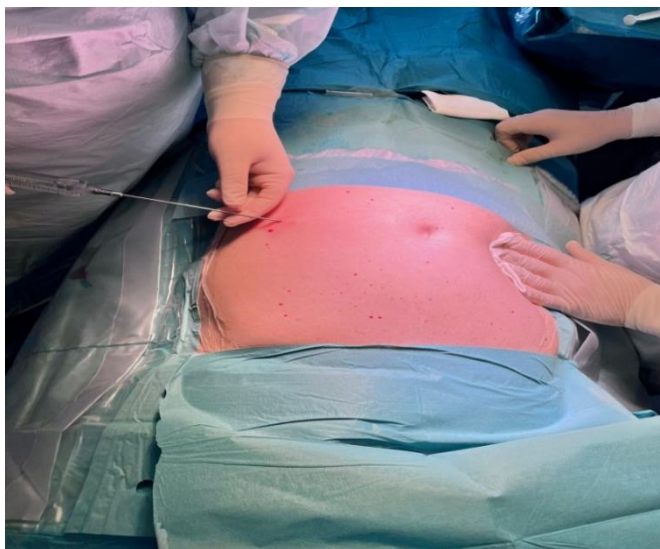


Рисунок 4.1. Выполнение тумесцентной анестезии подкожного жирового слоя передней брюшной стенки.

С этой целью использовали раствор Кляйна (гидрокарбонат натрия 0,9%–200 мл, лидокаин 2%–40 мл, адреналин 0,4%–0,2мл). Анестезию выполняли в объеме 100 мл с помощью тупоконечной инфильтративной иглы и шприца Luer Lock 60 мл, последовательно, от периферии – к центру.

После 10-минутной экспозиции, выполняли окончатой канюлей экстракцию 30 мл липоасpirата в четыре шприц-системы АСР Arthrex (Рисунок 4.2, 4.3).



Рисунок 4.2. Выполнение липоэкстракции.



Рисунок 4.3. Сбор липоэкстракта перед центрифугированием.

Далее шприц-системы центрифугировали в течение 4 мин. при 2500 об/мин. в

аппарате Hettich ROTOFIX 32 A (Рисунок 4.4).



Рисунок 4.4. Этап центрифугирования.

Производили механическую фильтрацию липоасpirата, последовательно через анаэробные фильтры 1,4 и 1,2 мкм (Рисунок 4.5) с повторным центрифугированием шприц-систем в течение 4 мин. при 2500 об/мин.



Рисунок 4.5. Механическая фильтрация липоасpirата.

В результате получали по 4 мл СВФ-ЖТ в каждом из двух шприцев (Рисунок 4.6).



Рисунок 4.6. Полученная стромально–вазкулярная фракция жировой ткани в шприцах системы ACP Arthrex.

Готовый препарат хранили в медицинском холодильнике при температуре 6-8⁰ С (в течение 3 суток до назначенной даты имплантации). За 2 часа до имплантации СВФ-ЖТ подвергали естественному нагреванию до комнатной температуры (20-22⁰ С).

Имплантацию СВФ-ЖТ осуществляли в условиях перевязочной. После трехкратной обработки кожного покрова по периферии раны выполняли имплантацию полученной смеси интрадермально шприцем объемом 3 мл через присоединенную инсулиновую иглу (27 G 1/2" (0,4x12 мм) (Рисунок 4.7).



Рисунок 4.7. Биоимплантация интрадермальным путем СВФ-ЖТ по периметру гранулирующей послеоперационной раны мягких тканей конечности.

В послеоперационном периоде пациент находился под наблюдением в течение 60–120 мин. Осложнений, связанных с биоимплантацией аутологичной СВФ-ЖТ, не было.

Клиническое наблюдение №1

Представляем клиническое наблюдение, иллюстрирующее эффективность биоимплантации СВФ-ЖТ.

Пациент Д., 42 лет.

При поступлении пациент предъявлял жалобы на постоянные боли ноющего, распирающего, пульсирующего характера в области правой кисти, ограничение движений в суставах пальцев.

Анамнез заболевания: со слов пациента, 7 суток назад, выполняя земляные работы на дачном участке, по личной неосторожности, при падении ударился тыльной стороной правой кисти о старую деревянную доску с гвоздями, после чего появились боли в правой кисти. Лечился самостоятельно, принимал анальгетики, НПВС, накладывал спиртовые повязки – без положительного эффекта, состояние ухудшалось. В связи с неэффективностью проводимого лечения обратился в приемное отделение госпиталя, госпитализирован.

Рост: 170 см, масса тела: 92 кг. Индекс массы тела: 31,83 кг/м² (ожирение I степени). Температура тела: 38,4 °С.

При объективном осмотре: кожные покровы правой кисти тёплые, без признаков нарушения кровообращения или иннервации, пальцы находятся в вынужденном положении лёгкого сгибания в пястно-фаланговых суставах, второй и третий пальцы несколько разведены в стороны. Отмечается выраженный отёк как ладонной, так и тыльной поверхностей правой кисти (Рисунок 4.8). При пальпации определяются участки флюктуации в проекции пястно-фалангового сустава и на тыльной стороне основной фаланги третьего пальца. Чувствительных расстройств нет.



Рисунок 4.8. Внешний вид правой кисти пациента Д. при поступлении

Данные лабораторно-инструментального обследования.

Общий анализ крови: лейкоцитоз ($12,5 \times 10^9/\text{л}$) со сдвигом лейкоцитарной формулы влево (палочкоядерные нейтрофилы — 16%).

Ультразвуковое исследование: в области тыльного подапоневротического пространства выявлена полость размером 10 см^3 (Рисунок 4.9).

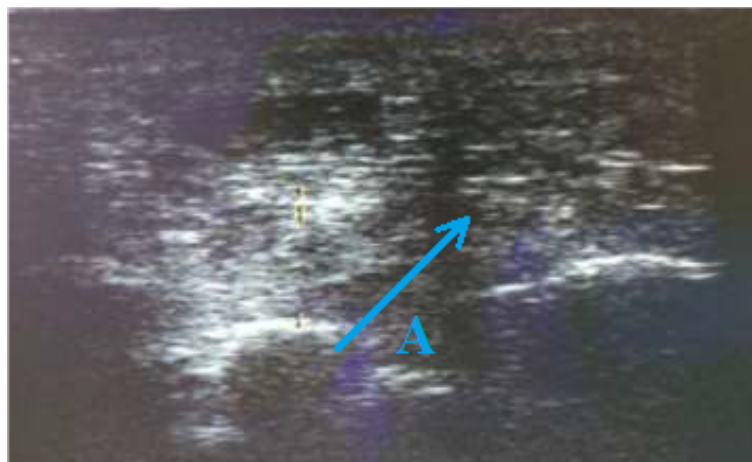


Рисунок 4.9. УЗИ больного Д. Локализация флегмоны в тыльном подапоневротическом пространстве (указана стрелкой).

Установленный диагноз: на основании данных анамнеза, клинической картины и результатов инструментального обследования пациенту выставлен диагноз: флегмона тыльного подапоневротического пространства правой кисти.

Оформлено информированное добровольное согласие пациента на

предложенную методику лечения, а также на фотофиксацию этапов лечения.

После проведения предоперационной подготовки, оперирован через 2 часа с момента поступления. Под проводниковой анестезией из разреза 5 см, выполненного на тыльной поверхности, и дугообразного разреза 2,5 см на ладонной поверхности в проекции второго межпальцевого промежутка правой кисти осуществили вскрытие очага гнойного воспаления, который находился в тыльном подапоневротическом клетчаточном пространстве, сообщающемся с гнойной полостью, локализованной между головками 2-й и 3-й пястных костей. Удалены гнойные и некротические массы. Признаков распространения гнойного процесса в срединное ладонное фасциально-клетчаточное пространство кисти не выявлено. Полость гнойника тщательно санирована растворами антисептиков (3% раствор перекиси водорода и 0,05% водный раствор хлоргексидина).

Был взят материал (отделяемое из раны) для бактериологического и цитологического исследования. В рану установлены резиновые выпускники (Рисунок 4.10). Наложена асептическая повязка с водным раствором йодиола, правая верхняя конечность иммобилизована гипсовой лонгетой от кончиков пальцев до верхней трети предплечья.



Рисунок 4.10. Пациент Д., 42 года. Дренирование послеоперационной раны резиновыми выпускниками.

Заключение бактериологического исследования на микрофлору и чувствительность к антибиотикам – выделен *Staphylococcus aureus* $\times 10^6$ КОЕ /мл с чувствительностью к антибиотикам цефалоспоринового ряда и группы

аминогликозидов 3-го поколения.

Больному назначена комбинированная антибактериальная терапия (цефтриаксон 2,0 в/в х 2 раза в сутки и амикацин 0,5 в/в х 3 раза в сутки), ненаркотические анальгетики, нестероидные противовоспалительные препараты, десенсибилизирующая, гастропротективная терапия. Ежедневно проводились перевязки с мазью «Левомеколь».

На 7-е сутки послеоперационного периода состояние пациента удовлетворительное. Пациент предъявляет жалобы на периодически возникающие боли в области тыльной поверхности левой кисти в зоне операции. Температура тела 37⁰С Лейкоциты – 10,2х10⁹/л, палочкоядерные нейтрофилы - 7%.

Объективно: гипсовая лонгета на правой верхней конечности, повязка сухая, чистая, отек мягких тканей правой кисти купирован, объем движений в пястнофаланговых суставах восстановлен в полном объеме, при движениях сохраняется выраженная болезненность в суставах пальцев правой кисти. На ладонной и тыльной поверхностях правой кисти определяются чистые послеоперационные раны, выполненные здоровой грануляционной тканью, отмечается начальная эпителизация со стороны краев ран (Рисунок 4.10).



Рисунок 4.10. Пациент Д., 42 года. Вид послеоперационных ран на 7-е сутки

Бактериологическое исследование мазка из раны на 6-е сутки комплексной послеоперационной терапии идентифицировало контаминацию раневой поверхности *S. Epidermidis* в 10³ КОЕ/мл.

В условиях операционной, на 7-е сутки выполнена операция: инъекционное интрадермальное введение СВФ-ЖТ по периметру гранулирующих послеоперационных ран мягких тканей правой кисти (Рисунок 4.11).



Рисунок 4.11. Пациент Д., 42 года. Интрадермальное введение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в область послеоперационной раны правой кисти.

Послеоперационный период протекал без осложнений, отмечался выраженный регресс болевого синдрома, что подтверждалось анкетированием и ВАШ. Выписан из стационара на 13-е сутки в удовлетворительном состоянии. Эпителизация ран завершилась на 15-е сутки. Восстановление функции правой верхней конечности зарегистрировано на 21-е сутки. Через 30 суток пациента беспокоили периодически возникающие боли в области послеоперационных рубцов на тыльной и ладонной поверхностях кисти. Отека правой кисти нет. Хватательная функция кисти сохранена, пациент удерживает предметы различной геометрической формы, но быстро возникает усталость в мышцах кисти. Движения во 2-м и 3-м пястно-фаланговых суставах ограничены из-за болевого синдрома менее чем на 50 % от нормы. При измерении относительной величины мышечной силы кисти с помощью ручного динамометра получен показатель, составляющий 50% ниже нормы. Послеоперационные рубцы ярко розового цвета, плотные, незначительно подвижные, без признаков келлоидной трансформации.

Через 90 сут. пациент предъявляет жалобы на незначительно выраженные

боли в области послеоперационных рубцов на правой кисти при интенсивной физической нагрузке. При осмотре: отека и нарушения функций кисти нет, относительная мышечная сила правой кисти в норме. Движения во 2-м и 3-м пястно-фаланговых суставах сохранены в полном объеме, незначительно болезненны в крайних положениях. Послеоперационные рубцы бледно-розового цвета, эластичные, подвижные, без признаков келлоидной трансформации (Рисунок 4.12).



Рисунок 4.12. Вид послеоперационных рубцов правой верхней конечности через 90 сут динамического наблюдения.

Через 180 суток пациент жалоб не предъявляет, движения в суставах правой кисти в полном объеме, функции кисти не нарушены, мышечная сила в правой кисти достаточная, послеоперационные рубцы бледно-розового цвета, мягко-эластической консистенции, подвижные, шириной 1,5 мм. Результат лечения признан удовлетворительным.

Таким образом, продемонстрирован метод механического получения СВФ-ЖТ. Оперативное вмешательство проводится под местной анестезией, удовлетворительно переносится пациентом, имеет минимальный реабилитационный период и характеризуется относительной дешевизной расходных материалов. Механический метод получения СВФ-ЖТ прост в исполнении. Применения СВФ-ЖТ на этапе реконвалесценции входит в стратегию ускорения процесса эпителизации гранулирующей раны, сокращения периода реабилитации пациента, восстановления функции конечности.

ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ЛЕЧЕНИИ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ

В целях изучения ближайших и среднесрочных результатов сочетанного применения хирургических методов и клеточных технологий в лечении пациентов с гнойно-септическими осложнениями травм/ранений и острыми гнойными заболеваниями мягких тканей конечностей, проведено сравнение в группах и подгруппах пациентов результатов их лечения, статистический анализ антропометрических, возрастных данных пациентов, длительности заболевания, уровня восприятия боли и других значимых сопоставимых критериев.

Как упоминалось в Главе 2, пациенты, в зависимости от проводимого хирургического лечения на этапе реконвалесценции, были разделены на две, почти равные по численности, группы — Группу I, или (сравнения) – 53 человека) и Группу II (основная) – 52 человека. Группу I составили пациенты, которым хирургическое лечение проведено согласно клиническим рекомендациям, включая применение вакуум-аспирационной терапии со 2-х суток послеоперационного периода, последующую иммобилизацию гипсовой лонгетой или ортезом. В Группу II включены пациенты, которым, помимо аналогичных по характеру и объему лечебных мероприятий, по достижении второй фазы раневого процесса, выполняли биоимплантацию СВФ-ЖТ путем интрадермальных инъекций по периметру гранулирующей послеоперационной раны.

В Группе I было 44 мужчины и 9 женщин, в Группе II – 41 мужчина и 11 женщин. Средний возраст пациентов составил $44,5 \pm 12$ года (у мужчин 40 ± 12 лет; у женщин $49,4 \pm 12$ лет).

Для распределения пациентов по возрастным периодам использована классификация ВОЗ (2004). В соответствии с ней, лица молодого возраста составили 68% (71 человек), среднего – 24% (25 человек), пожилого – 8% (9 человек) (Таблица 5.1).

Таблица 5.1 - Распределение пациентов по возрастным периодам в соответствии с классификацией ВОЗ

Возрастной период	Группа I		Группа II	
	абс. ч, %		абс.ч, %	
Молодой возраст (18–44 лет)	38	71	33	63
Средний возраст (45–59 лет)	11	21	14	27
Пожилой возраст (60 лет - 74 лет)	4	8	5	10
Итого:	53	100	52	100

Анализ данных показал, что наиболее частой причиной заболевания была травма – 90 случаев (86%). Структура пациентов в соответствии с патогенетическим фактором гнойно-септических осложнений травм/ранений и острых гнойных заболеваний мягких тканей конечностей представлена в таблице 5.2.

Таблица 5.2 – Распределение пациентов в зависимости от патогенетического фактора развития гнойно-септических осложнений

Патогенетический фактор	Абс. число	Доля, %
Острые или хронические воспалительные процессы конечностей	15	14%
Резаная рана	17	16%
Колотая рана	7	7%
Укушенная рана;	6	6%
Закрытая травма	16	15%
Огнестрельное пулевое ранение	12	12%
Минно-взрывная травма	32	31%
Всего	105	100
в т.ч.:	15	14
–воспалительный фактор		
–посттравматический фактор	90	86

По локализации гнойно-септических осложнений травм и ранений и острых гнойных заболеваний мягких тканей конечностей и уровню поражения (согласно классификации Ahrenholz, 1991 [175]) пациенты распределены следующим образом (Таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Распределение пациентов в группах по локализации и уровню поражения мягких тканей конечностей

Локализация поражения мягких тканей	Группа I уровень поражения* абс. ч				Группа II уровень поражения* абс. ч			
	II	III	IV	Итого	II	III	IV	Итого
Плечо	3	2	2	7	5	3	2	10
Предплечье	3	1	1	5	3	3	2	8
Кисть	5	5	4	14	4	5	1	10
Бедро	5	5	4	14	3	5	4	12
Голень	4	3	1	8	2	2	3	7
Стопа	3	2		5	3	2		5
Итого	23	18	12	53	22	20	10	52

* - по классификации Ahrenholz, 1991

В основном, больные (45%) поступали в стационар до 3 сут с момента заболевания, на 3 – 7-е сутки с начала заболевания – 30 %, после 7-х суток – 25%. Основной причиной поздней госпитализации была поздняя эвакуация на этап оказания специализированной хирургической помощи.

Сроки госпитализации пациентов после развития гнойно-септических осложнений травм и ранений и острых гнойных заболеваний мягких тканей, конечностей представлены в таблице 5.4.

Таблица 5.4 – Сроки госпитализации пациентов с момента развития гнойно-септических осложнений травм, ранений и острых гнойных заболеваний

Срок госпитализации Травма /заболевание	Патогенетический фактор хирургической инфекции мягких тканей конечностей															
	Острый воспалит процесс		Резаная рана		Укушенная рана		Колотая рана		Закрытая травма		Пулевое ранение		Минно-взрывная травма		Итого	
	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2
<3 суток	3	5	3	3	1	1	4	1	1	2	3	1	10	9	25	22
3–7 суток	2	1	3	1	2	2	1	2	2	4	2	4	2	4	14	18
> 7 суток	2	1	1	3	1	2	1	1	2	1	2	2	5	3	14	12
Итого	7	7	7	7	4	5	6	4	5	7	7	7	17	15	53	52

Важным критерием сравнения является динамика лабораторных индикаторов воспаления – уровня лейкоцитов и лейкоцитарного индекса интоксикации (индекс Кальф-Калифа) и С-реактивного белка в процессе лечения пациентов. Исследование этих показателей проведено в нескольких временных точках, от момента поступления до 14 суток. Сравнительные результаты представлены на рисунках 5.1, 5.2 и 5.3, соответственно.

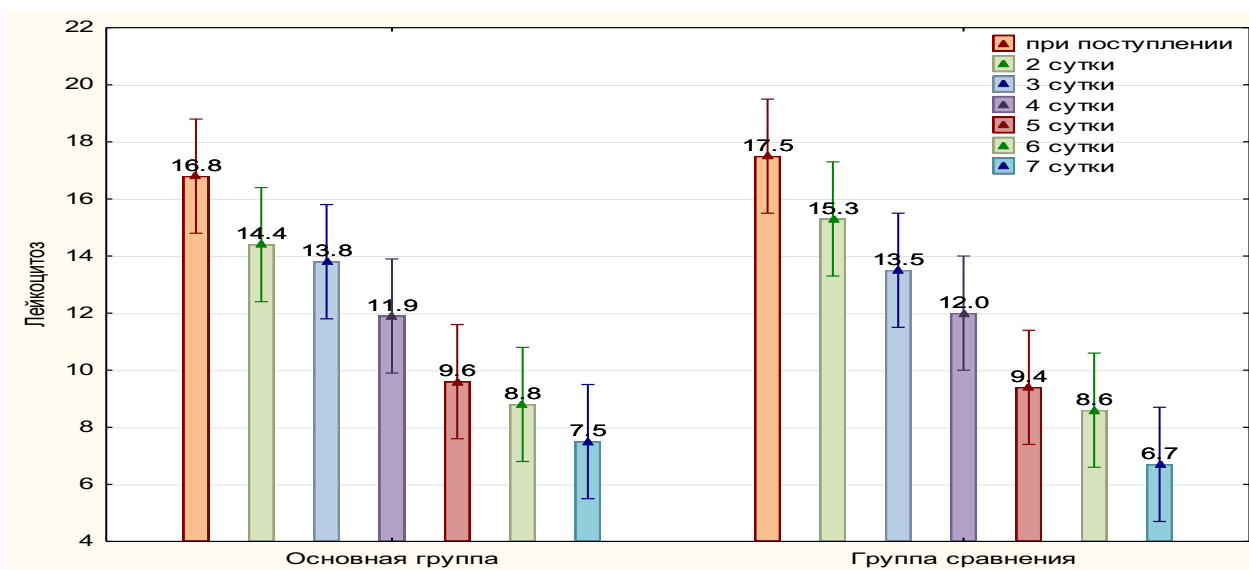


Рисунок 5.1. Динамика уровня лейкоцитоза периферической крови в процессе лечения у пациентов основной группы и группы сравнения

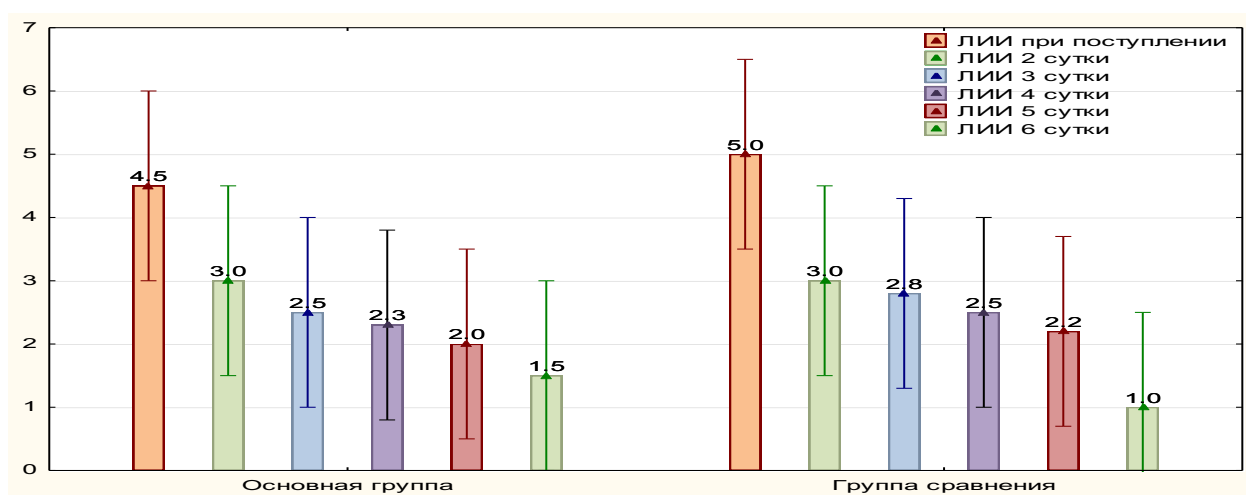


Рисунок 5.2. Динамика уровня лейкоцитарного индекса интоксикации в процессе лечения у пациентов основной группы и группы сравнения

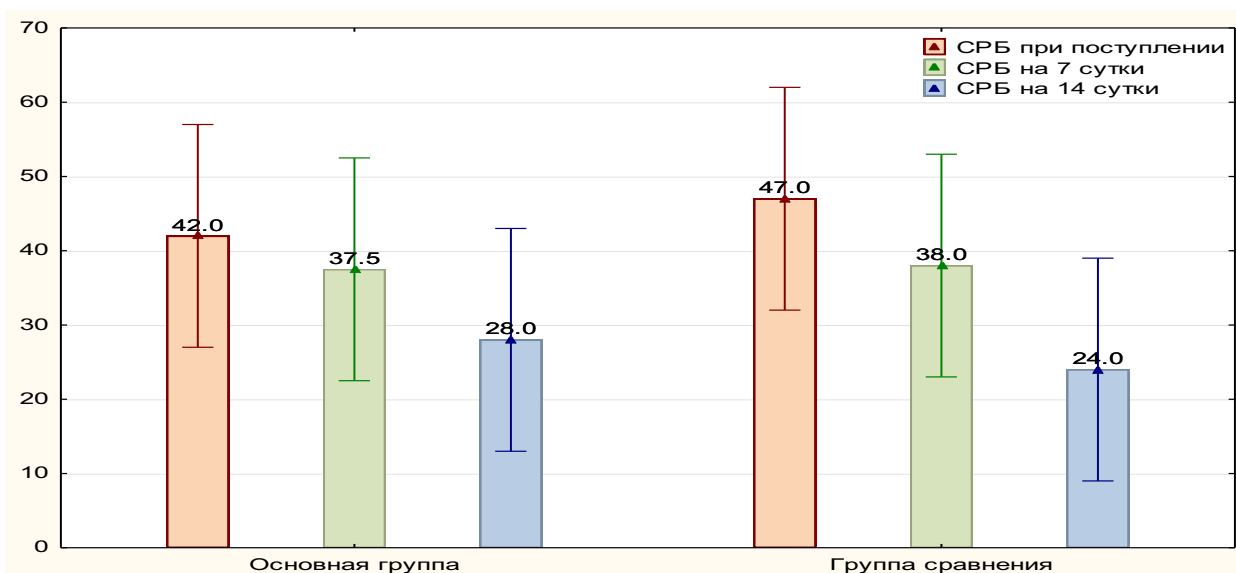


Рисунок 5.3. Динамика уровня С-реактивного белка в процессе лечения у пациентов основной группы и группы сравнения

Как следует из представленных на рисунках 5.1-5.3 диаграмм, у пациентов обеих групп при поступлении на этап специализированной хирургической помощи определялись сопоставимые, почти равные показатели бактериального воспаления, характерные для синдрома системного воспалительного ответа организма, во все периоды фиксации параметров (уровень лейкоцитов: при поступлении $p_{1,2}=0,556$; 3-и сутки $p_{1,2}=0,457$; 7-е сутки $p_{1,2}=0,605$. ЛИИ: при поступлении $p_{1,2}=0,537$; 3-и сутки $p_{1,2}=0,426$; 7-е сутки $p_{1,2}=0,937$. С-РБ: при поступлении $p_{1,2}=0,507$; 7-е сутки $p_{1,2}=0,877$; 14-е сутки $p_{1,2}=0,322$). Под влиянием проводимого комплексного хирургического лечения отмечалась стабильно положительная динамика течения хирургической инфекции у всей когорты пациентов с нормализацией лабораторных показателей крови, соответствующей фазам течения раневого процесса.

Анализ внутригрупповых показателей (в подгруппах "а" и "б" каждой группы) продемонстрировал следующее (рисунки 5.4-5.6).

Уровень лейкоцитоза периферической крови (Рисунок 5.4) при поступлении, на 3-и и 7-е сутки составлял в подгруппе № 1а: $16,4 \pm 2 \times 10^9/\text{л}$, $12,2 \pm 1,5 \times 10^9/\text{л}$, $6,5 \pm 1,8 \times 10^9/\text{л}$ ($p_{1-3 \text{ сутки}} = 0,017$; $p_{1-7 \text{ сутки}} < 0,001$). В подгруппе № 1б: $18,3 \pm 2 \times 10^9/\text{л}$, $13,2 \pm 1,7 \times 10^9/\text{л}$; $7,6 \pm 1,6 \times 10^9/\text{л}$, соответственно ($p_{1-3 \text{ сутки}} < 0,01$; $p_{1-7 \text{ сутки}} < 0,001$). В подгруппе № 2 а (в те же сроки): $16,6 \pm 9 \times 10^9/\text{л}$, $11,9 \pm 1,2 \times 10^9/\text{л}$,

4,5±1,3x10⁹/л (p_{1-3 сутки} < 0,01; p_{1-7 сутки} < 0,001); в подгруппе № 2 б: 17,5±2x10⁹/л, 14±1,86x10⁹/л, 8,1±1,6x10⁹/л, соответственно (p_{1-3 сутки} = 0,022; p_{1-7 сутки} < 0,001). При сравнении подгрупп "а" и "б" основной группы и соответствующих подгрупп группы сравнения во все периоды наблюдения разница превышала порог статистической значимости (p>0,05), то есть показатели были идентичными или, по крайней мере, полностью сопоставимыми. В то же время, между подгруппами "а" и "б" внутри каждой группы разница была статистически значимой (p<0,01): это означает, что минно-взрывные ранения сопровождаются большей воспалительной реакцией, чем "банальные" гнойно-воспалительные заболевания и травмы "мирного" времени.

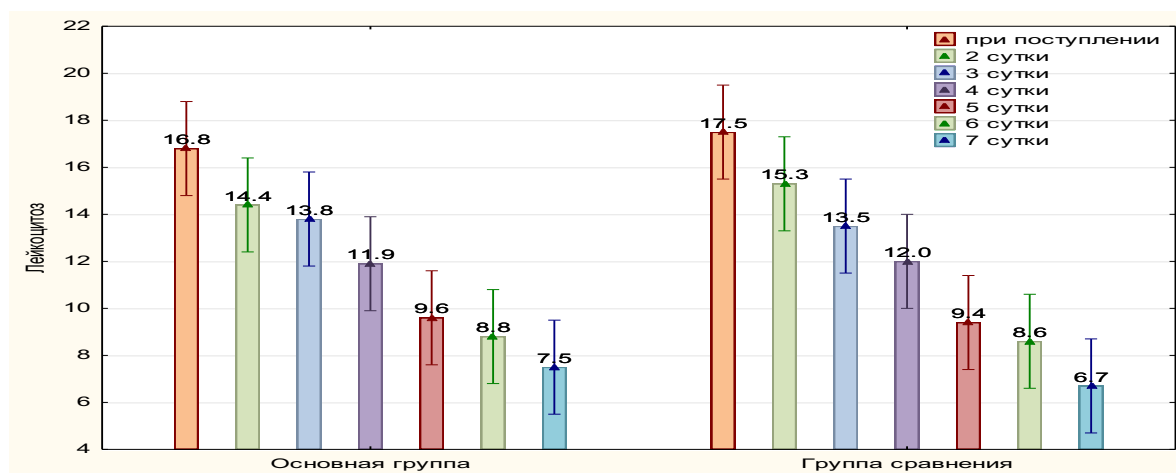


Рисунок 5.4. Динамика уровня лейкоцитоза периферической крови в процессе лечения у пациентов подгрупп "а" и "б" основной группы и группы сравнения

Уровень лейкоцитарного индекса интоксикации (Рисунок 5.5) при поступлении, на 3-и и 7-е сутки составлял в подгруппе в № 1 а: 3,5±1,5, 1,8±1,1, и 1,5±1,0, соответственно (p_{1-3 сутки} < 0,001; p_{1-7 сутки} < 0,001; p_{3-7 сутки} = 0,039); в подгруппе № 1 б: 5,8±2,5, 3,2±1,4, 1,7±1,1, соответственно (p_{1-3 сутки} < 0,011; p_{1-7 сутки} < 0,001; p_{3-7 сутки} = 0,022). В подгруппе № 2 а (в те же сроки): 3,8±1,2, 2,2±1,2, 1,5±1,0 (p_{1-3 сутки} < 0,001; p_{1-7 сутки} < 0,001; p_{3-7 сутки} = 0,044); в подгруппе № 2 б: 5,9±1,7, 3,4±1,3, 1,8±1,4, соответственно (p_{1-3 сутки} < 0,001; p_{1-7 сутки} < 0,001; p_{3-7 сутки} = 0,042). Аналогично показателям динамики лейкоцитоза, при сравнении подгрупп "а" и "б" основной группы и соответствующих подгрупп группы сравнения

разница превышала порог статистической значимости во все периоды наблюдения ($p > 0,05$), в то время как внутригрупповые различия были статистически значимыми ($p < 0,01$), по крайней мере, до 7-х суток.

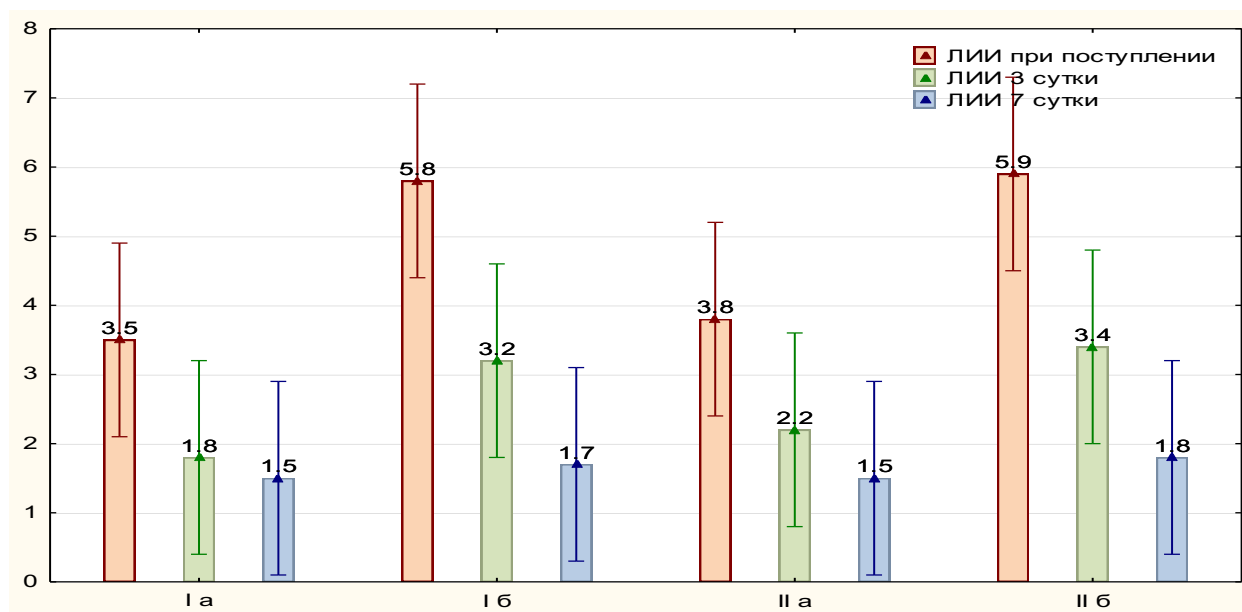


Рисунок 5.5. Динамика уровня лейкоцитарного индекса интоксикации в процессе лечения у пациентов подгрупп "а" и "б" основной группы и группы сравнения

Уровень С-реактивного белка (Рисунок 5.6) при поступлении, на 7-е и 14-е сутки составлял в подгруппе № 1 а: $31,0 \pm 12$ мг/л, 28 ± 14 мг/л, 16 ± 8 мг/л, соответственно ($p_{1-7 \text{ сутки}} = 0,071$; $p_{1-14 \text{ сутки}} < 0,001$; $p_{7-14 \text{ сутки}} < 0,001$); в подгруппе № 1 б: 53 ± 15 мг/л, 42 ± 16 мг/л; 24 ± 13 мг/л, соответственно ($p_{1-7 \text{ сутки}} = 0,071$; $p_{1-14 \text{ сутки}} < 0,001$; $p_{7-14 \text{ сутки}} < 0,001$). В подгруппе № 2 а (в те же сроки): 37 ± 14 мг/л, 25 ± 11 мг/л, 14 ± 6 мг/л, соответственно ($p_{1-7 \text{ сутки}} = 0,012$; $p_{1-14 \text{ сутки}} < 0,001$; $p_{7-14 \text{ сутки}} < 0,001$); в подгруппе № 2 б: 55 ± 17 мг/л, 42 ± 15 мг/л, 27 ± 12 мг/л, соответственно ($p_{1-7 \text{ сутки}} = 0,033$; $p_{1-14 \text{ сутки}} < 0,001$; $p_{7-14 \text{ сутки}} < 0,001$). Анализ показывает, что так же, как и в отношении других индикаторов бактериального воспаления, уровни С-РБ между соответствующими подгруппами обеих групп ("а" - "а" и "б" - "б") не различались, в отличие от сопоставления подгрупп внутри групп ("а" - "б"), где различия были статистически значимы.

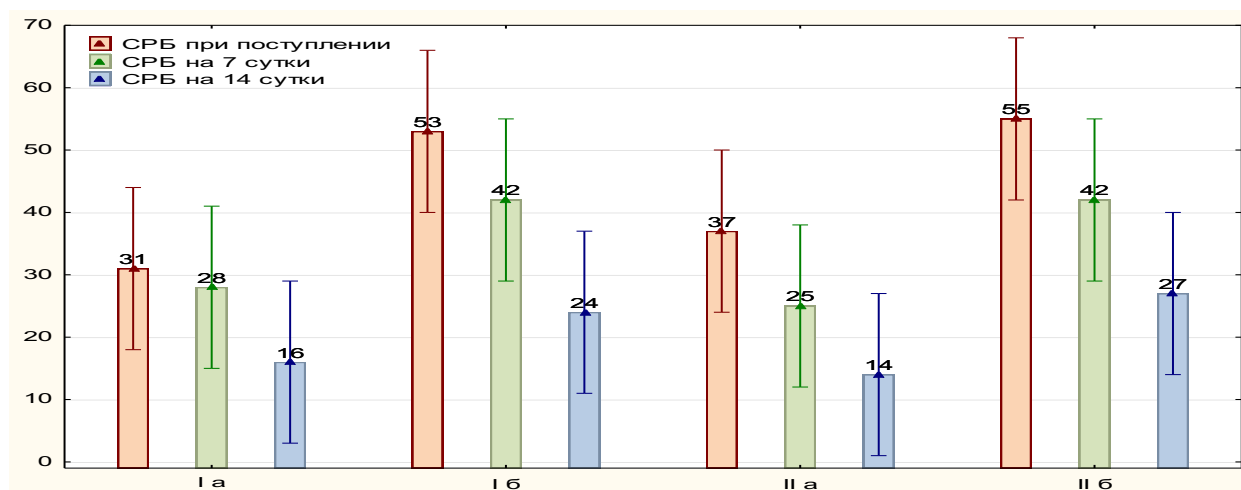


Рисунок 5.6. Динамика уровня С-реактивного белка в процессе лечения у пациентов подгрупп "а" и "б" основной группы и группы сравнения

Таким образом, проведенный анализ показывает, что, в целом, в обеих группах наблюдения течение раневого процесса при минно-взрывной травме сопровождается более выраженным воспалительным компонентом.

Показатели сроков наступления эпителизации раны для пациентов Группы II в среднем составил 14 ± 3 суток, сроков восстановления функции конечности – 20 ± 4 суток, длительность иммобилизации пораженного сегмента конечности – 10 ± 3 суток (таблица 5.5).

Таблица 5.5 – Некоторые показатели, характеризующие виды выполненных оперативных вмешательств и течение раннего послеоперационного периода

	Вид операции		Длительность иммобилизации, сут	Эпителизация, сут.	Восстановление функции конечности, сут.
	Вторичные швы	Расщепленный лоскут			
Группа I (сравнения)	29	18	7 ± 2	17 ± 3	24 ± 4
Группа II (основная)	30	17	10 ± 3	14 ± 3	20 ± 4
			$P_{I,II} = 0,081$	$P_{I,II} = 0,017$	$P_{I,II} = 0,001$

Несмотря на относительно большую продолжительность иммобилизации конечности у пациентов основной группы, эпителизация раны и восстановление функциональной активности проходили у них быстрее.

Динамика показателей качества жизни в ближайшем и среднесрочном периодах наблюдения

Значимым исходом любого заболевания является последующее качество жизни. В этой связи проведено изучение показателей качества жизни в трех временных интервалах (30, 90 и 180 суток после операции) по результатам анкетирования пациентов с использованием опросника «Оценка качества жизни» SF-36 (рисунки 5.7–5.9). При интерпретации показателей следует учитывать, что, чем ближе результат к 100, тем лучше.

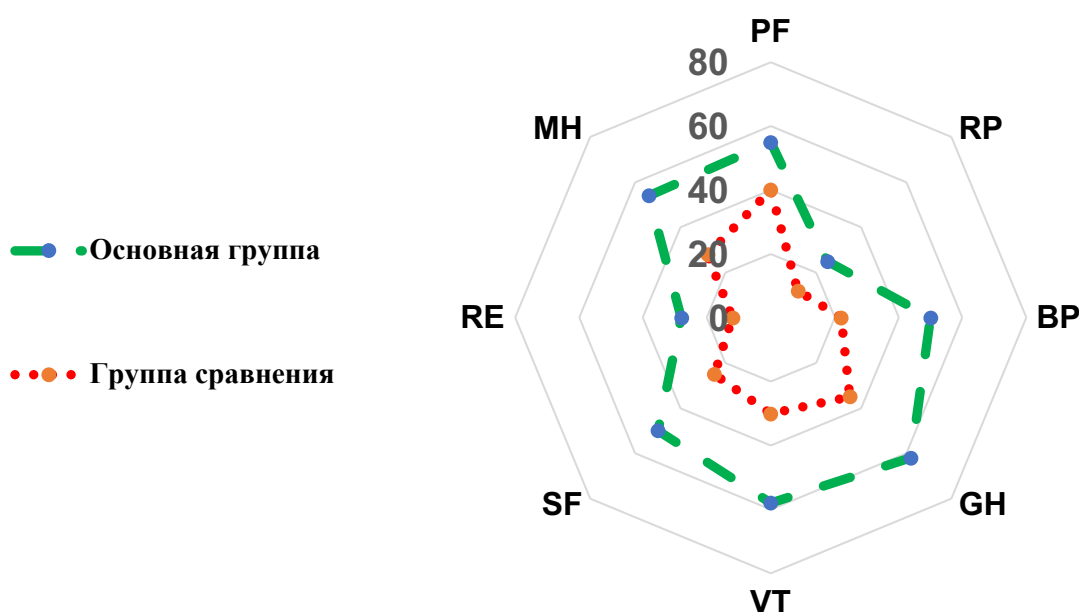


Рисунок 5.7. Оценка качества жизни пациентов основной группы и группы сравнения через 30 суток

Анализ показывает, что уже к 30-м суткам после оперативного лечения наблюдаются существенные различия между пациентами обеих групп наблюдения. Так, уровень психологического компонента здоровья (МН) через 30 сут. после операции (МН₁) составил в Группе I (сравнения) в среднем $30 \pm 2,6$ баллов, у пациентов Группы II (основной) показатели в соответствующий период наблюдения составили: $54 \pm 2,7$ баллов (Рисунок 5.7).

Уровень физического компонента здоровья (PF) у пациентов Группы I на 30-е сут. (PF₁) составил 40 ± 4 баллов, у пациентов Группы II – 55 ± 4 балла.

Изменения уровня интенсивности боли (BP), входящего в состав интегрального показателя «физический компонент здоровья», на наш взгляд, одного из наиболее значимых признаков, отражающих качество жизни пациентов, показывают, что уже к 30 суткам наблюдения в основной группе показатель интенсивности боли в 2 раза лучше, чем таковой в группе сравнения. Показатели жизненной активности (VT) пациентов Группы I также были ниже, чем в Группе II.

Суммарно, несмотря на сходные профили "деформации" качества жизни (практически одинаковые формы кривых, характеризующих отдельные показатели), у пациентов основной группы тренды к нормализации выражены в значительно большей степени.

К 90-м суткам наблюдения "профили" кривых претерпевают дальнейшие изменения (Рисунок 5.8), но тенденция сохраняется: в Группе II все показатели расположены "снаружи" от аналогичных оценок, зафиксированных в Группе I.

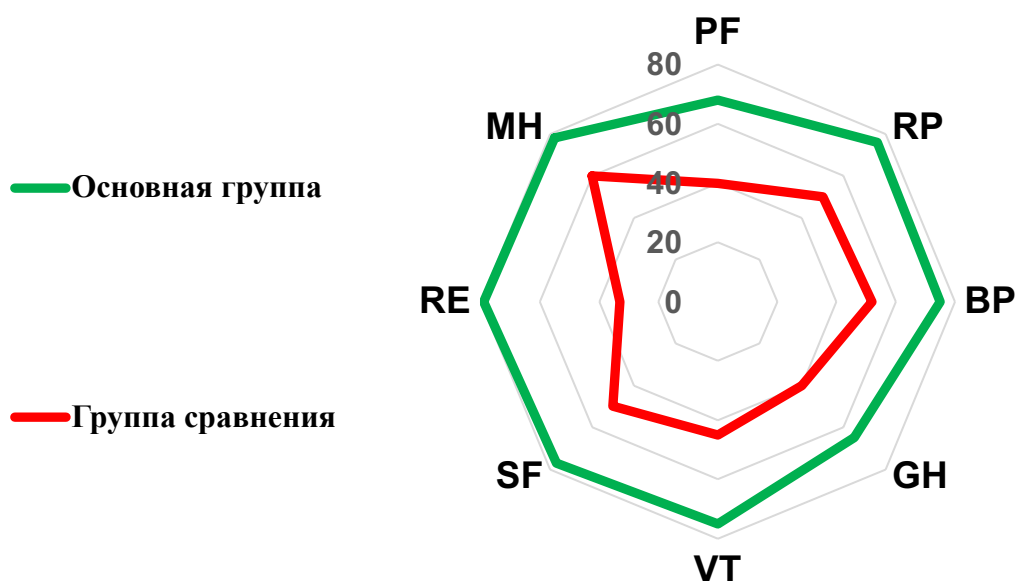


Рисунок 5.8. Оценка качества жизни пациентов основной группы и группы сравнения через 90 суток

Уровень психологического компонента здоровья через 90 сут. (MH₂) – в Группе I 60±2 баллов, в Группе II – 78±2,6 баллов. Уровень физического компонента здоровья (PF₂) в Группе I 40±1 балл, в Группе II 68±1 баллов.

Интенсивность боли (BP) в обеих группах уменьшается (время лечит), однако в основной группе показатель ближе к норме и на 25% лучше, чем в группе сравнения. Аналогичные тенденции имеют место и в отношении показателей VT, SF и других компонентов опросника SF-36.

К 180-м суткам анализируемые показатели, несмотря на тенденцию к нормализации, по-прежнему "отстают" в группе сравнения на 10% по всем компонентам (Рисунок 5.9).

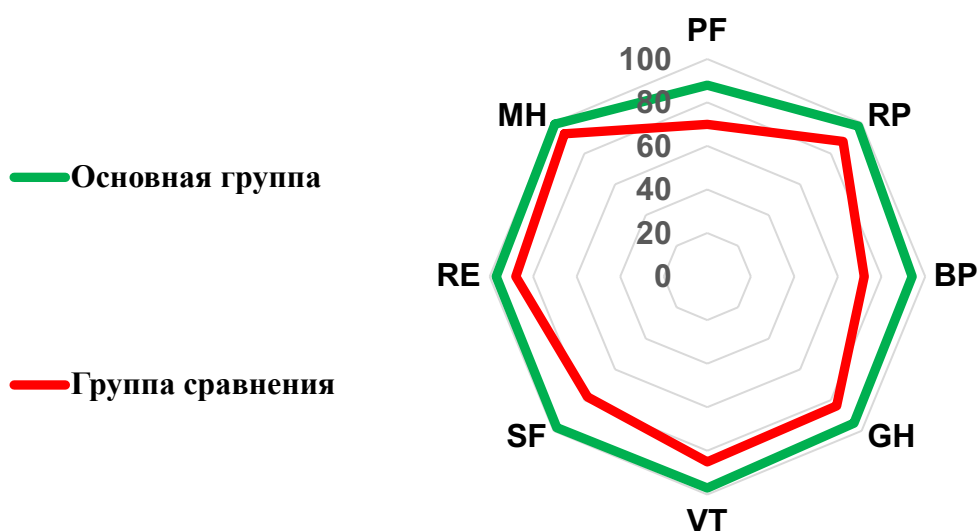


Рисунок 5.9. Оценка качества жизни пациентов основной группы и группы сравнения через 30 суток

В Группе I (сравнения) уровень психологического компонента здоровья через 180 сут. после операции (МН₃) составлял в среднем $93 \pm 3,5$ баллов, в то время как у пациентов Группы II (основной) показатели в соответствующий период наблюдения достигали $98,3 \pm 1$ баллов. Уровень физического компонента здоровья (PF₃) в Группе I 70 ± 2 баллов, в Группе II – 88 ± 2 баллов. Аналогичные тенденции отмечены и в отношении других компонентов опросника SF-36.

Проведенный анализ показал, что группы достоверно различались между собой, в первую очередь за счет следующих показателей:

- показатель жизненной активности через 90 сут. после начала лечения (VT₂), F-критерий Фишера – 2,73; $p < 0,05$;
- социальное функционирование через 90 сут. после начала лечения (SF₂), F-

критерий Фишера – 2,11; $p < 0,05$;

– ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (RE₂) через 90 сут. после начала лечения, F-критерий Фишера – 1,06; $p < 0,05$;

– психическое здоровье через 180 сут. после начала лечения (MH₃), F-критерий Фишера – 1,36; $p < 0,05$.

Интенсивность боли через 90 сут. после начала лечения (BP₂), F-критерий Фишера – 1,06; $p < 0,05$.

Через 180 сут. после лечения достоверно различались все 4 показателя психологического компонента здоровья:

– психическое здоровье (MH₃), F-критерий Фишера – 1,35; $p < 0,05$;

– жизненная активность (VT₃), F-критерий Фишера – 1,41; $p < 0,05$;

– социальное функционирование (SF₃), F-критерий Фишера – 1,06; $p < 0,05$;

– ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (RE₃), F-критерий Фишера – 1,16; $p < 0,05$.

Физический компонент здоровья. Через 180 суток после лечения достоверные различия наблюдались по всем 4 показателям физического компонента здоровья:

– физическое функционирование (PF₃), F-критерий Фишера – 6,4; $p < 0,05$;

– ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (RP₃), F-критерий Фишера – 1,06; $p < 0,05$;

– интенсивность боли (BP₃), F-критерий Фишера – 1,03; $p < 0,05$;

– общее состояние здоровья (GH₃), F-критерий Фишера – 1,77; $p < 0,05$;

Таким образом, анализ динамики показателей шкал SF-36 пациентов обеих групп за весь период наблюдения наглядно демонстрирует, что показатели качества жизни пациентов Группы I "отстают" от соответствующих критериев Группы II, и лишь к 90-м суткам достигают значений, зафиксированных на 30-е сутки в основной группе, а к 180-м – соответственно уровня 90-х суток.

С целью определения влияния патогенетического фактора хирургической инфекции конечности на динамику качества жизни, проведен анализ с помощью

опросника SF-36 отдельно в подгруппах наблюдения ("а" и "б" каждой группы). Для этого выполнено попарное сравнение данных обеих групп с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня психологического здоровья для пациентов подгруппы № 1а через 30 сут. (МН₁) составили: 26±2,3 баллов; через 90 сут. (МН₂) – 61±1 баллов; через 180 сут. (МН₃) – 96±2 баллов (Рисунок 5.10). В подгруппе № 1б показатели МН₁ составили 25±2,5 балла, через 90 сут. (МН₂) – 58±2,50 балла, через 180 сут. (МН₃) составил 90±3,16 балла. У пациентов подгруппы № 2а в соответствующие периоды наблюдения составили: МН₁ 31±2,6 балла, МН₂ – 80,3±3,28 балла, МН₃ – 99±1 балла; в подгруппе № 2б: МН₁ 29±2,3 балла, МН₂ – 77±1 балла, МН₃ – 97±3 балла (Рисунок 5.10).

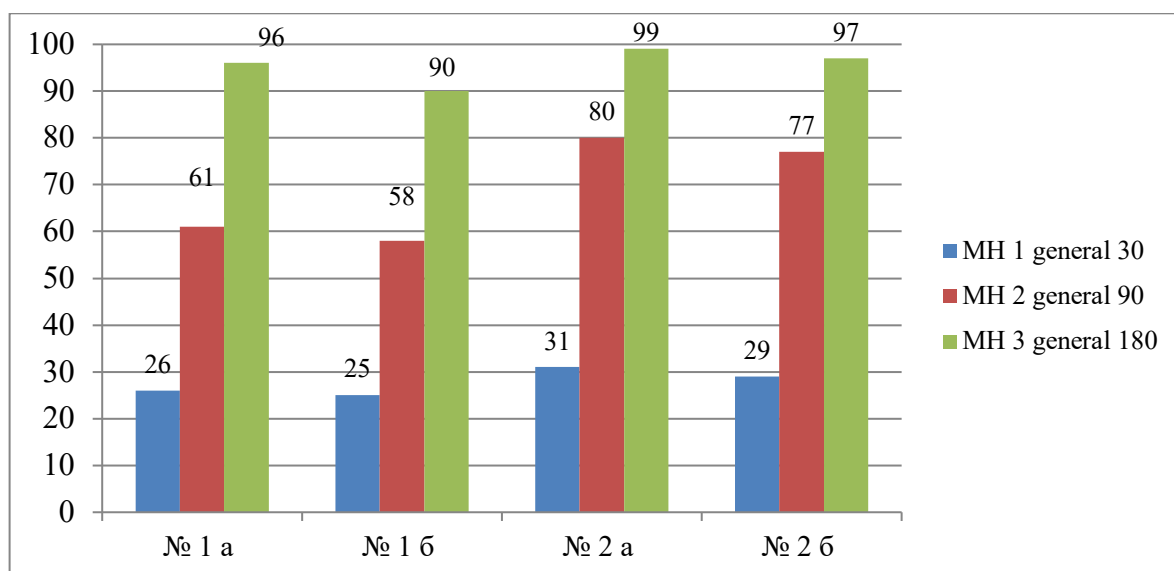


Рисунок 5.10. Изменения уровня психологического компонента здоровья (МН) у больных подгруппах Групп I и II в ходе динамического наблюдения 30-180 суток.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня физического компонента здоровья для пациентов подгруппы № 1а через 30 сут (PF₁) составили: 39±2 баллов; через 90 сут. (PF₂) – 40±1 баллов; через 180 сут. (PF₃) – 70±2 баллов (Рисунок 5.11). В подгруппе № 1б показатели PF₁ составили 37±2 балла, через 90 сут. (PF₂) – 40±3 балла, через 180 сут. (PF₃) составил 68±3 балла. У пациентов подгруппы № 2а в соответствующие периоды наблюдения составили: PF₁ 56±3 балла, PF₂ – 68±3 балла, PF₃ – 88±1 балла; в подгруппе № 2б: PF₁ 52±2

балла, PF₂ – 66±1 балла, PF₃ – 86±3 балла. Данные, относящиеся к уровню физического компонента здоровья (PF) в подгруппах представлены на рисунке 5.11.

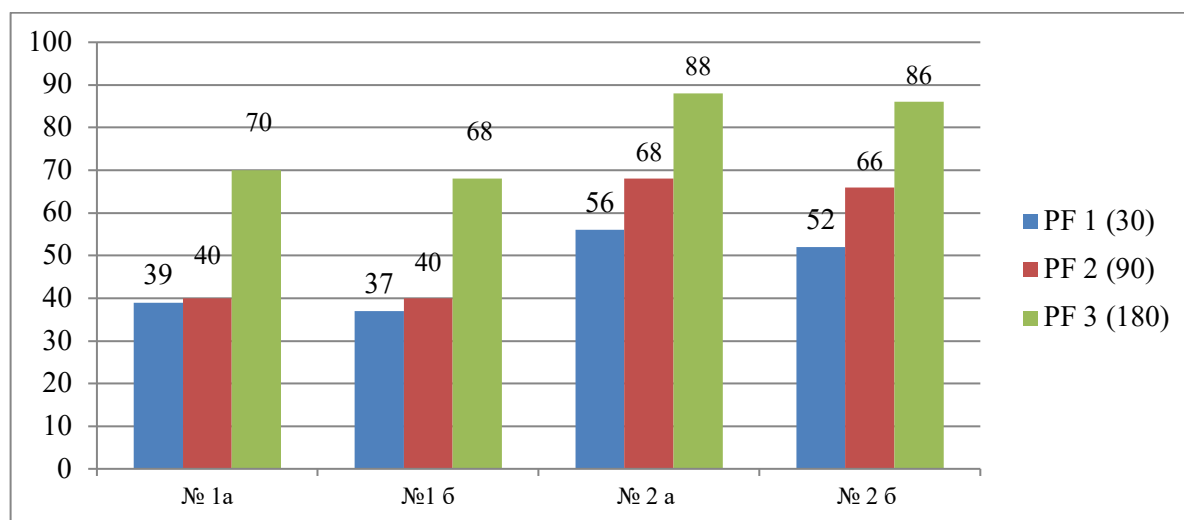


Рисунок 5.11. Изменения уровня физического компонента здоровья (PF) пациентов в подгруппах Групп I и II в процессе динамического наблюдения 30-180 суток.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня показателя жизненной активности (Vitality, VT) для пациентов подгруппы № 1а через 30 сут. (VT₁) составили: 33±2 баллов; через 90 сут. (VT₂) – 47±1 баллов; через 180 сут. (VT₃) – 87±2 баллов (Рисунок 5.12). В подгруппе № 1б показатели VT₁ составили 28,8±2 балла, через 90 сут. (VT₂) – 56±3 балла, через 180 сут. (VT₃) составил 83±3 балла. У пациентов подгруппы № 2а в соответствующие периоды наблюдения составили: VT₁ 61±3 балла, VT₂ – 77±3 балла, VT₃ – 98±1 балла; в подгруппе № 2б: VT₁ 52±2 балла, VT₂ – 72±1 балла, VT₃ – 94±3 балла. Изменение уровня показателя жизненной активности (VT) в подгруппах пациентов представлено на рисунке 5.12.

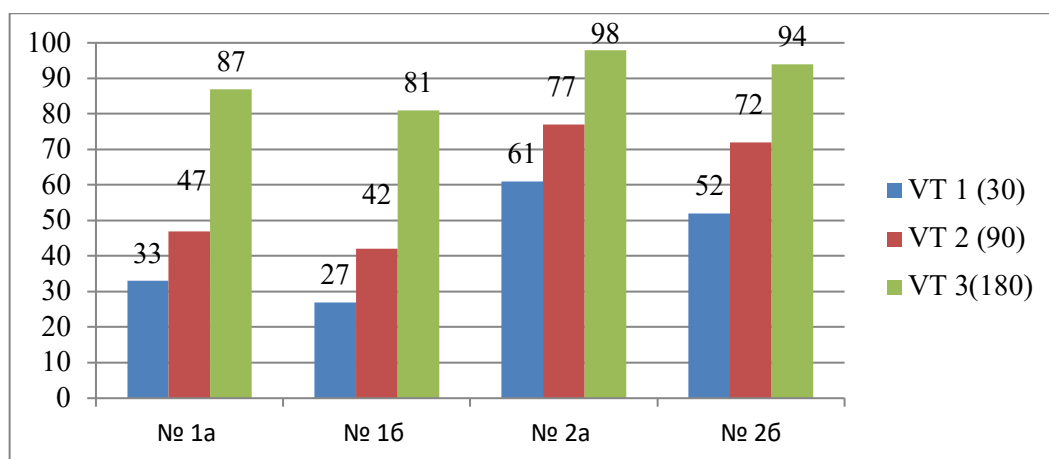


Рисунок 5.12. Динамика показателя жизненной активности (Vitality, VT) больных в подгруппах Групп I и II в процессе динамического наблюдения 30–180 суток.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня показателя социального функционирования (SF) для пациентов подгруппы № 1a через 30 сут (SF₁) составили: 25±2 баллов; через 90 сут. (SF₂) – 50±1 баллов; через 180 сут. (SF₃) – 78±2 баллов (Рисунок 5.13). В подгруппе № 16 показатели SF₁ составили 23±2 балла, через 90 сут. (SF₂) – 48±3 балла, через 180 сут. (SF₃) составил 75±3 балла. У пациентов подгруппы № 2a в соответствующие периоды наблюдения составили: SF₁ 51±3 балла, SF₂ – 77±3 балла, SF₃ – 98±1 балла; в подгруппе № 26: SF₁ 49±2 балла, SF₂ – 75±1 балла, SF₃ – 96±3 балла. Изменение уровня показателя социального функционирования (SF) в подгруппах пациентов представлено на рисунке 5.13.

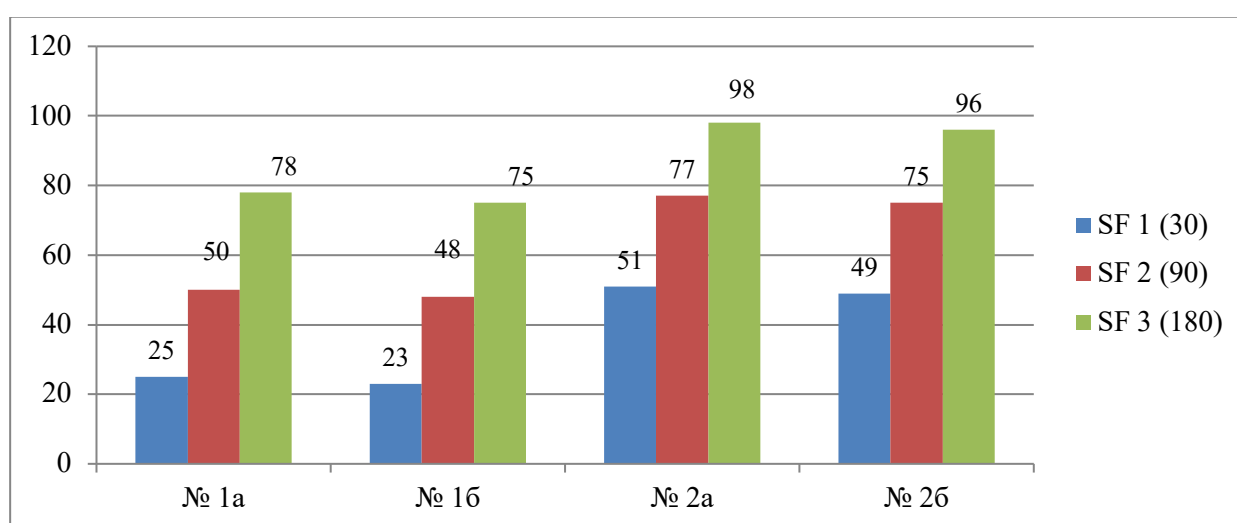


Рисунок 5.13 Динамика уровня социального функционирования (SF) пациентов в подгруппах Групп I и II в процессе динамического наблюдения 30–180 суток.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня ролевого функционирования, обусловленного эмоциональным состоянием (RE), для пациентов подгруппы № 1а через 30 сут (RE₁) составили: 12±2 баллов; через 90 сут. (RE₂) – 33±1 баллов; через 180 сут. (RE₃) – 88±2 баллов (Рисунок 5.14). В подгруппе № 1б показатели RE₁ составили 11±2 балла, через 90 сут. (RE₂) – 31±3 балла, через 180 сут. (RE₃) составил 85±3 балла. У пациентов подгруппы № 2а в соответствующие периоды наблюдения составили: RE₁ 28±3 балла, RE₂ – 80±3 балла, RE₃ – 97±1 балла; в подгруппе № 2б: RE₁ 27±2 балла, RE₂ – 79±1 балла, RE₃ – 95±3 балла. Динамика уровня показателя ролевого функционирования, обусловленного эмоциональным состоянием (RE), в подгруппах пациентов представлена на рисунке 5.14.

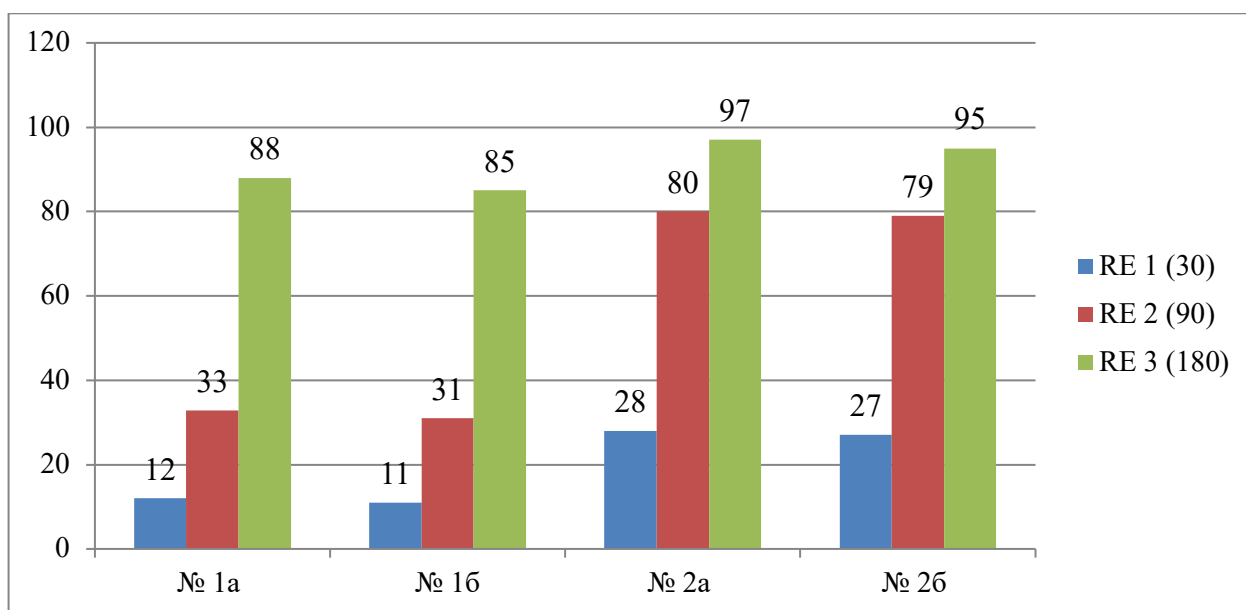


Рисунок 5.14. Динамика уровня ролевого функционирования, обусловленного эмоциональным состоянием пациентов (RE), в подгруппах Групп I и II в процессе динамического наблюдения 30–180 суток.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием (RP), для пациентов подгруппы № 1а через 30 сут. (RP₁) составили: 12±2 баллов; через 90 сут. (RP₂) – 50±1 баллов; через 180 сут. (RP₃) – 88±2 баллов (Рисунок 5.15). В подгруппе № 1б показатели RP₁ составили 12±2 балла, через 90 сут. (RP₂) – 48±3 балла, через 180

сут. (RP₃) составил 86±3 балла. У пациентов подгруппы № 2а в соответствующие периоды наблюдения составили: RP₁ 25±3 балла, RP₂ – 76±3 балла, RP₃ – 98±1 балла; в подгруппе № 2б: RP₁ 25±2 балла, RP₂ – 75±1 балла, RP₃ – 96±3 балла.

Изменение уровня показателя ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием (RP), в подгруппах пациентов представлено на рисунке 5.15.

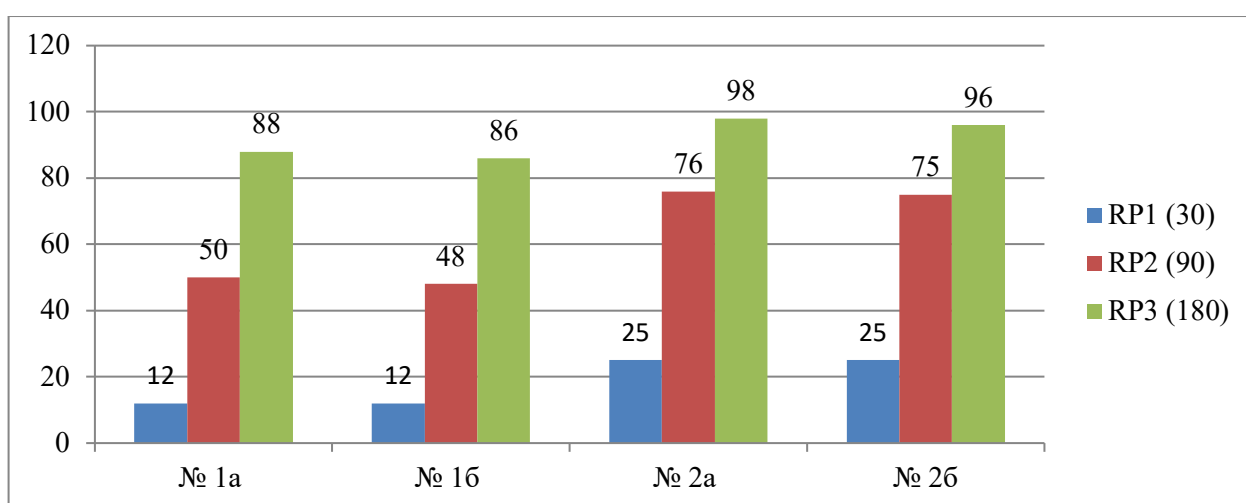


Рисунок 5.15 Динамика уровня ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием пациентов (RP), в подгруппах Групп I и II в процессе динамического наблюдения 30–180 суток.

У пациентов обеих подгрупп основной группы показатель ролевого функционирования, обусловленного физическим состоянием, через 180 суток в 2 раза превышает аналогичный показатель у пациентов Группы I. Наибольший рост показателя был зафиксирован у больных подгруппы № 2А. В этой подгруппе значение RP на 180-е сутки (RP₃) практически в 4 раза превышает исходный показатель (RP₁). В то же время в подгруппе № 1б показатель RP₃, хотя и демонстрирует выраженную тенденцию к нормализации, остаётся на 10% ниже аналогичного показателя в основной группе.

Изменение уровня показателя уровня интенсивности боли (BP) в подгруппах пациентов представлено на рисунке 5.16.

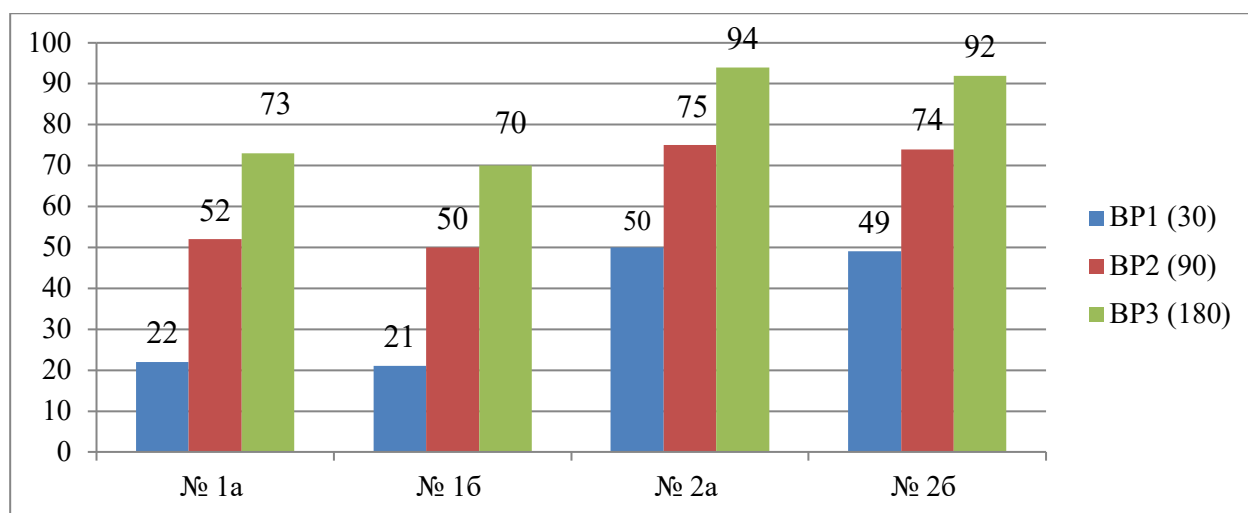


Рисунок 5.16. Динамика уровня интенсивности боли у пациентов в подгруппах Групп I и II в процессе динамического наблюдения 30–180 суток.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня интенсивности боли (BP) для пациентов подгруппы № 1а через 30 сут (BP₁) составили: 22±2 баллов; через 90 сут. (BP₂) – 52±1 баллов; через 180 сут. (BP₃) – 73±2 баллов (Рисунок 5.16). В подгруппе № 1б показатели BP₁ составили 21±2 балла, через 90 сут. (BP₂) – 50±3 балла, через 180 сут. (BP₃) составил 70±3 балла.

У пациентов подгруппы № 2а в соответствующие периоды наблюдения составили: BP₁ 50±3 балла, BP₂ – 75±3 балла, BP₃ – 94±1 балла; в подгруппе № 2б: BP₁ 49±2 балла, BP₂ – 74±1 балла, BP₃ – 92±3 балла.

В подгруппах максимальное повышение уровня показателя интенсивности боли (BP₃) регистрируется в подгруппе №2а, где показатель BP₃ в 2 раза выше по сравнению с показателем BP₁.

Изменение уровня показателя состояния общего здоровья (GH) в подгруппах пациентов представлено на рисунке 5.17.

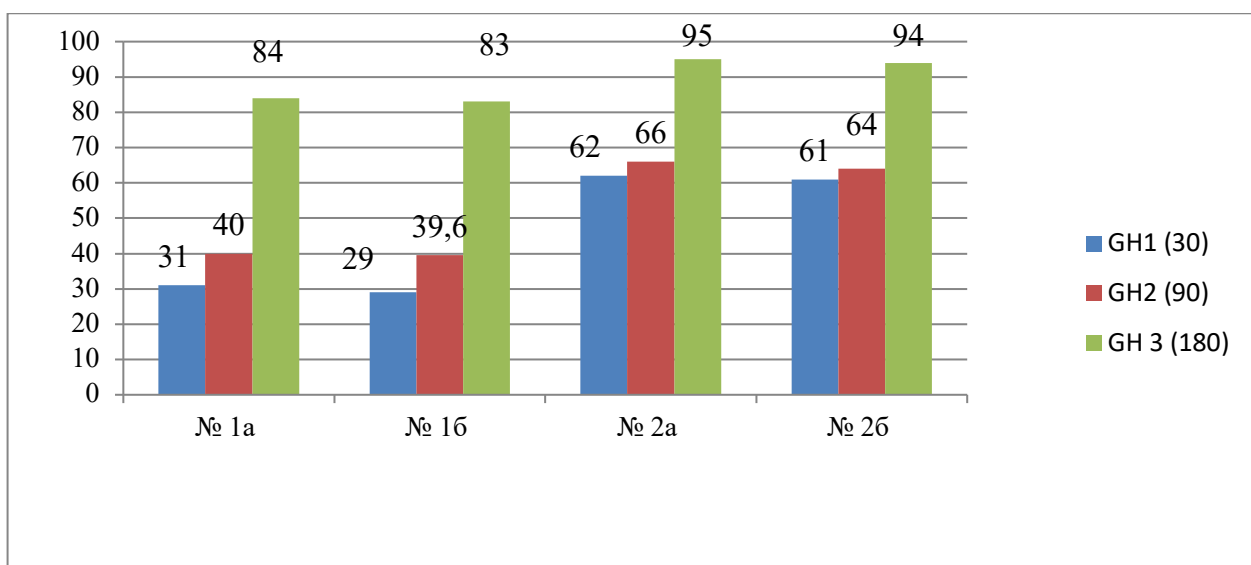


Рисунок 5.17. Динамика уровня состояния общего здоровья у пациентов в подгруппах Групп I и II в процессе динамического наблюдения 30–180 суток.

Внутригрупповые изменения средних значений уровня показателя состояния общего здоровья (GH) для пациентов подгруппы № 1а через 30 сут (GH₁) составили: 31±2 баллов; через 90 сут. (GH₂) – 40±1 баллов; через 180 сут. (GH₃) – 84±2 баллов (Рисунок 5.17). В подгруппе № 1б показатели GH₁ составили 29±2 балла, через 90 сут. (GH₂) – 40±3 балла, через 180 сут. (GH₃) составил 83±3 балла. У пациентов подгруппы № 2а в соответствующие периоды наблюдения составили: GH₁ 62±3 балла, GH₂ – 66±3 балла, GH₃ – 95±1 балла; в подгруппе № 2б: GH₁ 61±2 балла, GH₂ – 64±1 балла, GH₃ – 94±3 балла.

Таким образом, при сравнении подгрупп 1 а с 1 б и 2 а с 2 б в отношении динамики показателей качества жизни от 30-х к 180-м суткам установлено, что, в целом, у пациентов с гнойными заболеваниями и гнойно-септическими осложнениями механической травмы мягких тканей конечностей процесс восстановления протекал более благоприятно по сравнению с огнестрельной раной. Так, показатели МН₁₋₃, РF₁₋₃, VT₁₋₃, ВР₁₋₃ и других были в подгруппе 1 а приблизительно на 15-20% выше, чем в подгруппе 1 б. Аналогично, для пациентов, вошедших в подгруппу 2 а, они были выше, чем в 2 б приблизительно на 10-20%. При этом, анализ внутри подгрупп, от 30-х к 180-м суткам, демонстрирует, что в подгруппе 1 а она в динамике улучшалась (на примере VT): от 33 – к 47 – до 87 (т.е. в 2,5 раза), в подгруппе 1 б от 27 – к 42 – до 81 (в 3 раза),

в подгруппе 2 а – от 61 – к 77 – до 98 (в 2,5 раза) в подгруппе 2 б – от 52 – к 72 – до 94 (в 1,7 раза). При интерпретации полученных результатов следует учитывать, что меньший прирост показателей в подгруппе 2 по сравнению с подгруппой 1 связан с их изначально более высокими значениями.

Из приведенных данных возможно сделать два важных заключения. Первое: процесс реабилитации после огнестрельной раны протекает менее благоприятно по сравнению с гнойными заболеваниями и гнойно-септическими осложнениями механической травмы мягких тканей конечностей. Второе: применение СВФ в процессе комплексного хирургического лечения в подгруппе 2 способствует лучшей нормализации показателей, характеризующих качество жизни, чем у пациентов подгруппы 1, вне зависимости от патогенетического фактора, приведшего к хирургической инфекции конечности.

Динамика изменений показателей качества жизни пациентов подгруппы №1а носит интермиттирующий, неравномерный характер, что проявляется снижением показателей качества жизни отдельных шкал или снижением их уровня в процессе динамического наблюдения.

Динамика изменений показателей качества жизни пациентов подгруппы №1б также имеет неравномерный проградийный характер, который проявляется снижением показателей качества жизни отдельных шкал по периодам динамического наблюдения. характер улучшения качества жизни регистрируется у пациентов подгруппы №1б (пациенты с гнойно-септическими осложнениями огнестрельной травмой мягких тканей конечностей).

В Группе I внутригрупповые изменения показателей качества жизни характеризуются медленно прогрессирующей положительной динамикой, при этом значения большинства шкал остаются относительно стабильными на протяжении всего периода наблюдения. Достигнув своих максимальных значений к 90-м суткам, такие показатели, как жизненная активность (VT), общее состояние здоровья (GH), социальное функционирование (SF) и интенсивность боли (BP), в дальнейшем не претерпевают существенных изменений вплоть до завершения динамического наблюдения. В свою очередь, изменения качества жизни

пациентов подгруппы №2а носят постоянно положительно направленный характер, с графическим построением практически равносторонних восьмиугольников к 90-м и 180-м суткам. Наиболее характерно изменение показателей качества жизни, таких как ролевое функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (RP) и ролевое функционирование, обусловленное физическим состоянием (RE), которые достигают максимума к 90-м суткам и остаются постоянно высокими до окончания динамического наблюдения. Именно эти высокие значения шкал RP и RE определяют скорейшее восстановление трудоспособности пациентов подгруппы №2а.

Аналогичные изменения качества жизни под влиянием проводимого лечения регистрируются в подгруппе 2б. Динамика изменений показателей качества жизни, представленная по подгруппам, наглядно доказывает эффективность применения стромально-васкулярной фракции на этапе реконвалесценции (гранулирующей раны) хирургической инфекции мягких тканей конечностей. Качество жизни пациентов обеих подгрупп этой группы значительно улучшается и имеет стабильно прогрессивный характер уже к 90 – м суткам наблюдения.

Определенный научно-практический интерес представляет изучение качества жизни в зависимости от индекса массы тела (ИМТ), возраста и сроков госпитализации пациентов от начала заболевания. В этой связи проведен отдельный соответствующий анализ этих факторов у пациентов с глубокими флегмонами конечностей в группе сравнения и основной группе.

Среди пациентов обеих групп преобладали лица молодого возраста ($n=71$), с ИМТ более 25 кг/м^2 ($n=80$). По срокам заболеваемости большую часть ($n=47$) составляли пациенты с длительностью догоспитального периода от 1 до 3 суток.

На рисунке 5.18 представлена динамика уровня психологического компонента здоровья у пациентов основной группы в зависимости от возрастной категории.

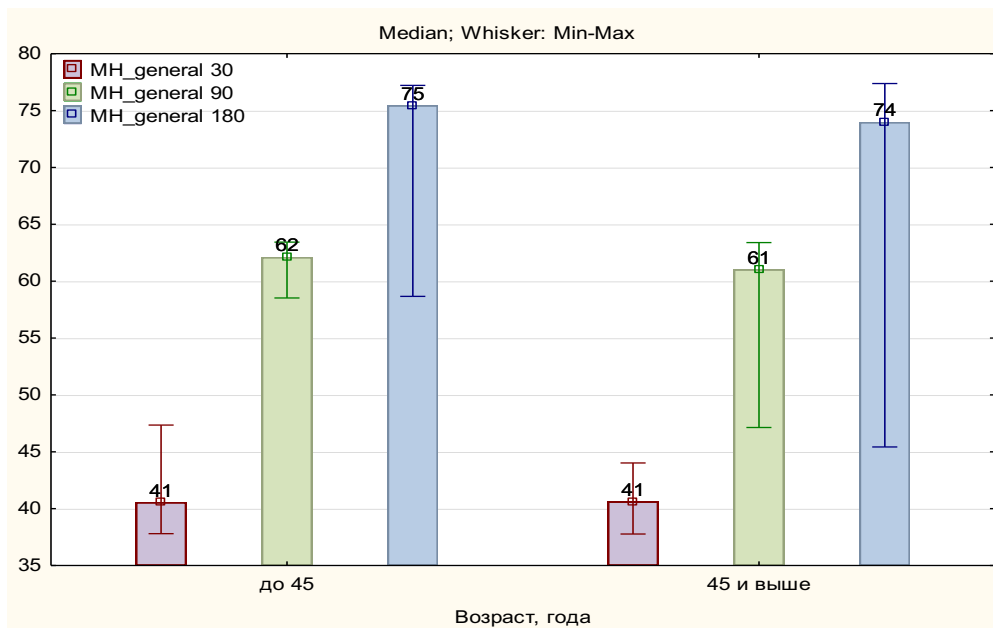


Рисунок 5.18. Динамика уровня психологического компонента здоровья в послеоперационном периоде у пациентов основной группы различного возраста.

На рисунке 5.19 отражена динамика уровня физического компонента здоровья пациентов в возрасте до 45 лет и выше.

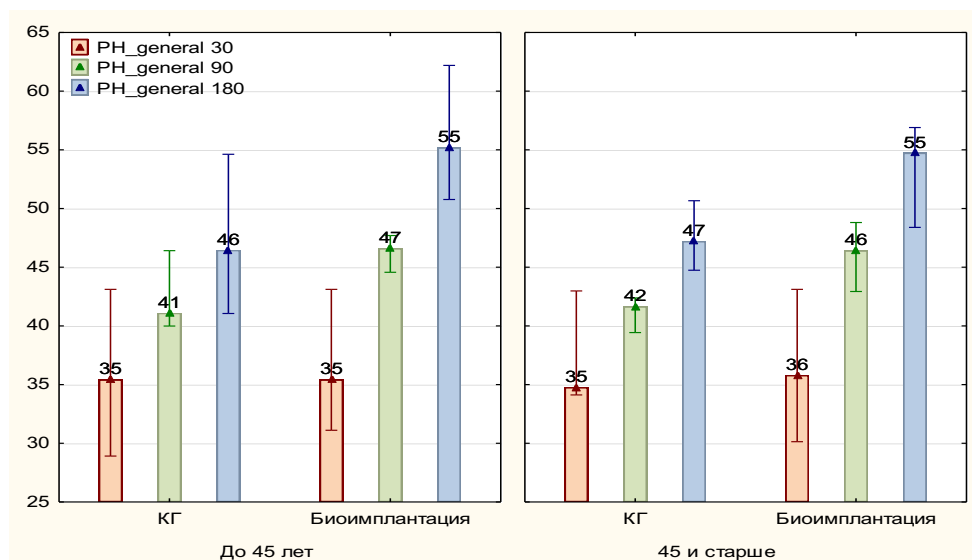


Рисунок 5.19. Динамика уровня физического компонента здоровья в послеоперационном периоде у пациентов обеих клинических групп с учетом возраста пациентов.

На рисунке 5.20 показана динамика уровня психологического компонента здоровья у пациентов обеих клинических групп в зависимости от индекса массы тела.

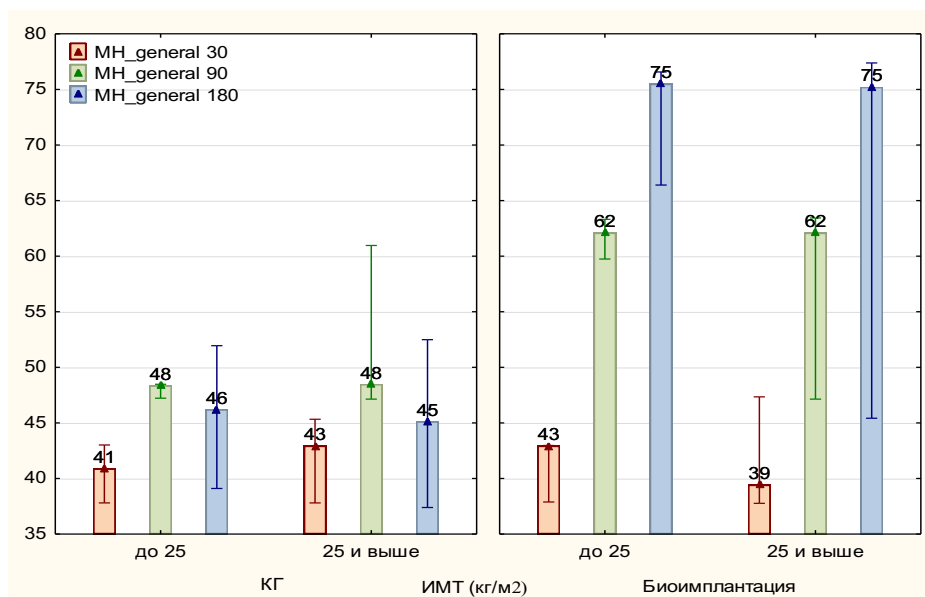


Рисунок 5.20. Динамика уровня психологического компонента здоровья в послеоперационном периоде у пациентов клинических групп с учетом индекса массы тела.

На рисунке 5.21 показана динамика уровня физического компонента здоровья у пациентов обеих клинических групп с различным индексом массы тела.

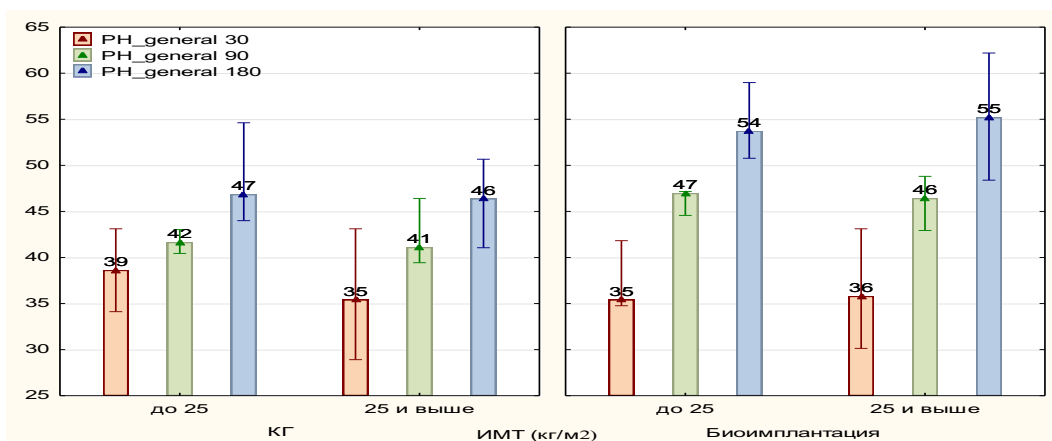


Рисунок 5.21. Динамика уровня физического компонента здоровья в послеоперационный период у пациентов обеих клинических групп в зависимости от индекса массы тела.

Результаты анализа свидетельствуют о том, что возраст и длительность заболевания существенно не влияют на качество жизни: различия в статистически не значимы ($p \geq 0,05$). Исключение представляют больные Группы II с индексом массы тела более 25 кг/м^2 , у которых по шкале психологического компонента

здоровья определяются существенные изменения в оценке качества жизни по результатам анкетирования через 90 сут. после начала лечения, достигая максимальных значений к 180 сут. наблюдения, превышая аналогичный показатель у пациентов Группы I в 2 раза.

Аналогичная картина складывается по уровню физического компонента здоровья и длительности заболевания (Рисунок 5.22) у пациентов обеих клинических групп.

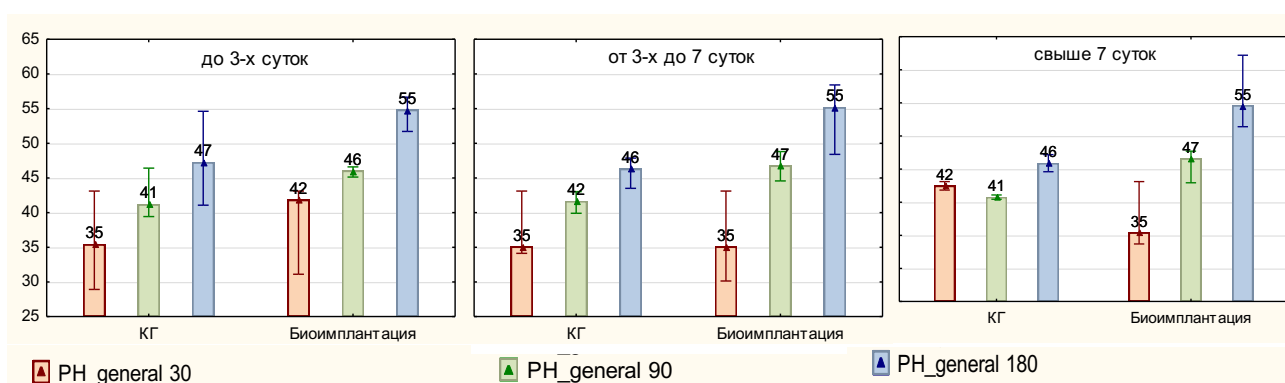


Рисунок 5.22. Динамика уровня физического компонента здоровья в послеоперационный период у пациентов обеих групп в зависимости от длительности догоспитального периода.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать следующие выводы.

1. Существенные изменения в оценке качества жизни пациентов основной группы определялись по результатам анкетирования через 90 сут. после начала лечения.
2. Все показатели физического и психологического компонента здоровья у пациентов основной группы увеличиваются в 1,3–3 раза.

Клинические показатели течения раневого процесса в ранние сроки послеоперационного периода представлены в табл. 5.6.

Таблица 5.6. Статистически значимые клинические и лабораторные параметры стадии реконвалесценции (заживления послеоперационной раны) у больных групп наблюдения, $M \pm \sigma$.

№ п/п	Параметры (n=53)	Группа 1	Группа 2
1.	Длительность заболевания до госпитализации (сут.)	3,0±1,8	6,20±2,39
2.	Оценка интенсивности болевого синдрома:		
	показатель ВАШ при поступлении	6,74 ± 1,20	8,39± 1,20
	показатель ВАШ на 7-е сутки	5,15 ±0,91	6,18±0.91
	показатель ВАШ на 14-е сутки	4,77 ±0,75	3,98±0,75
	показатель ВАШ на 21-е сутки	3,63±0,87	1,80±0,87
3.	С-реактивный белок при поступлении (мг/л)	57,2±40,71	127,70±59,72
4.	С-реактивный белок на 7-е сутки (мг/л)	50,04±39,24	115 ±59
5.	Длительность иммобилизации (сут.)	3,09±2,39	9,47±2,30
6.	Эпителизация раны (сут.)	16,65±2,61	13,88±2,62
7.	Восстановление функции конечности (сут)	24,35±3,68	19,72±3,67
8.	Неудовлетворительный косметический эффект	24%	4%
9.	РН general 90	41,44±1,11	46,33±1,03
10.	МН general 90	48,94±2,05	61,34±2,37
11.	РН general 180	46,79±2,15	54,68±2,25
12.	МН general 180	45,67±3,53	73,55±5,12

Представленные в таблице 5.6 данные свидетельствуют о том, что у пациентов Группы II, изначально имевших более продолжительный догоспитальный период, высокие показатели ВАШ и уровень маркера острой фазы воспаления эпителизация раны достигается к 14±2,62 суткам, восстановление функции конечности – к 20±3,67 суткам, регистрируется выраженный и стойкий противовоспалительный эффект, достигаемый за короткий промежуток времени.

Изучение показателей качества жизни путем анкетирования пациентов в отделенный послеоперационный период подтверждает статистически значимое повышение качества жизни пациентов II группы по сравнению с Группой I. Исходы лечения, оцениваемые как неудовлетворительные, составили 4%. Предложенный способ хирургического лечения глубоких флегмон конечностей обеспечивает в послеоперационном периоде на этапе активно гранулирующей

раны уменьшение болевого синдрома, создает благоприятные условия для эпителизации и рубцевания, включая неоангиогенез, ингибирует избыточную пролиферативную воспалительную реакцию в зоне оперативного вмешательства, и, в результате, имеет преимущество перед традиционным методом ведения ран конечностей: частота благоприятных исходов – 96% (Рисунок 5.23).

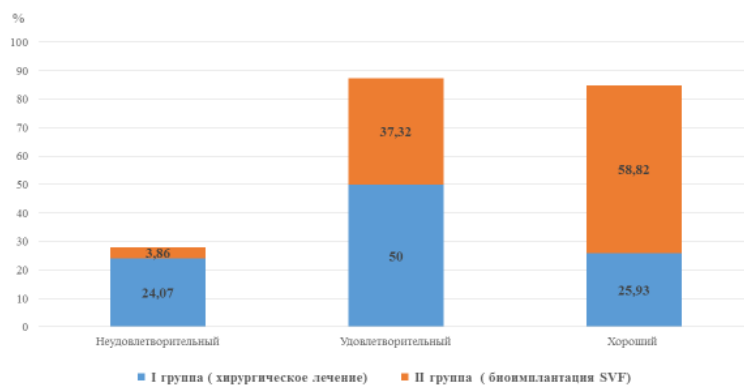


Рисунок 5.23. Исходы лечения пациентов в группах наблюдения, в %.

С целью демонстрации эффективности применения СВФ-ЖТ в комплексном лечении пациента с гнойно-септическими осложнениями минно-взрывной травмы приводим клиническое наблюдение.

Пациент К., 1995 г.р., в ходе специальной военной операции 07.05.2022 г. при артиллерийском обстреле получил ранение левой нижней конечности осколками снаряда и взрывной волной был отброшен на бетонную стену. В момент получения травмы пациент сознания не терял, обстоятельства получения травмы помнит. получил множественные осколочные ранения груди, верхних и нижних конечностей вследствие артиллерийского обстрела. После оказания первой помощи последовательно прошел этапы медицинской эвакуации и на 4-е сутки доставлен в многопрофильный госпиталь.

При поступлении раненый предъявлял жалобы на пульсирующие ноющие боли в области раны левой нижней конечности, регистрируется фебрильная температура, адинамия, одышка. Асептическая повязка на левой нижней конечности имеет грязно-серый цвет, пропитана сукровично-гнойным отделяемым. Кровоснабжение левой нижней конечности сохранено, пульсация на

тыльной артерии стопы определяется, тактильная чувствительность не изменена, активные движения в крупных суставах конечности ограничены болевым синдромом.

Лабораторные данные: гемоглобин 69 г/л, лейкоциты $14,0 \times 10^9/\text{л}$, с нейтрофильным сдвигом (сегментоядерные – 78%, палочкоядерные – 12%, метамиелоциты–1%, лимфоциты–9%), тромбоциты $159 \times 10^9/\text{л}$. В биохимическом анализе крови определяется гипопроteinемия (общий белок 53 г/л) высокий уровень креатинкиназы – 5908 ед/л, азотистых оснований (мочевина – 11,6 ммоль/л, креатинин–137 мкмоль/л), трансаминаз (АСТ 276 ед/л, АЛТ 180 ед/л), С-реактивный белок 150 мг/л.

Данные рентгенологического исследования: на МСКТ органов грудной клетки визуализируются переломы 2–7 ребер по средней подмышечной линии со смещением костных отломков (Рисунок 5.24).

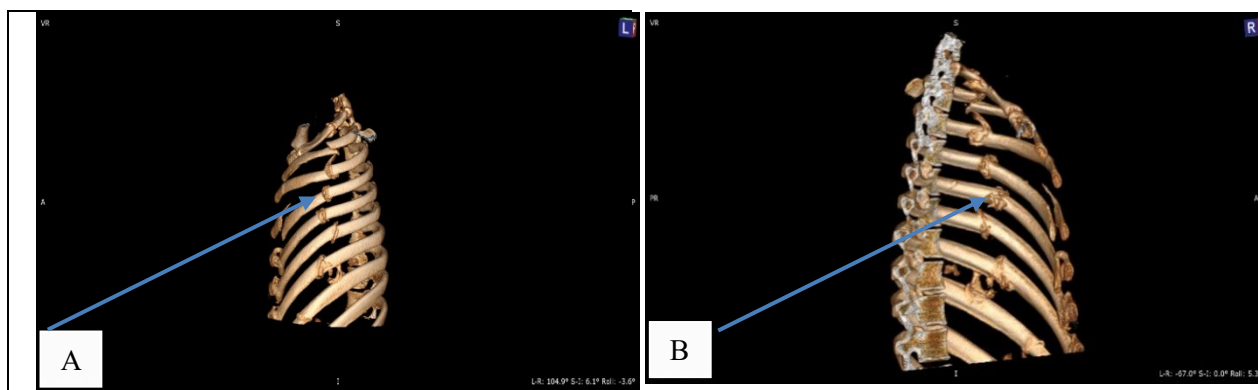


Рисунок 5.24. Пациент К. Трёхмерная реконструкция костных структур грудной клетки, сагиттальный срез. Переломы рёбер: (А) по наружной боковой поверхности; (В) по внутренней боковой поверхности

Определяются КТ–признаки острого респираторного дистресс-синдрома и двустороннего малого гидроторакса (общий объем около 700 мл), а также расширение всех камер сердца (ушиб сердца).

На МСКТ органов брюшной полости и малого таза визуализируется перелом подвздошной кости со смещением костных отломков, оскольчатый перелом крыла левой подвздошной кости, множественные инородные тела левой ягодичной области, пневматоз кишечника, диффузно-дистрофические изменения печени (Рисунок 5.25).

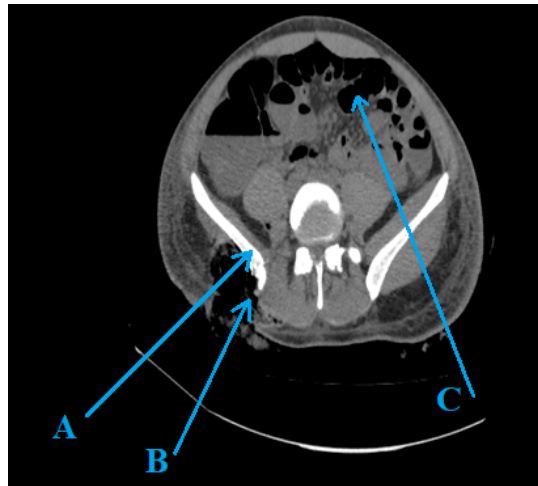


Рисунок 5.25. Пациент К. МСКТ таза, фронтальная проекция. А - многооскольчатый перелом левой подвздошной кости; В - дефект мягких тканей левой ягодичной области; С - пневматоз кишечника.

Трансторакальная ЭхоКГ. Глобальная систолическая функция левого желудочка соответствуют нормальным значениям, ФВ 55%. Определяются ЭХО-признаки гипокинеза боковой стенки левого желудочка, асинхронное движение межжелудочковой перегородки. Сепарация листков перикарда за левым желудочком до 3 мм, над правыми отделами – до 5 мм (Рисунок 5.26).

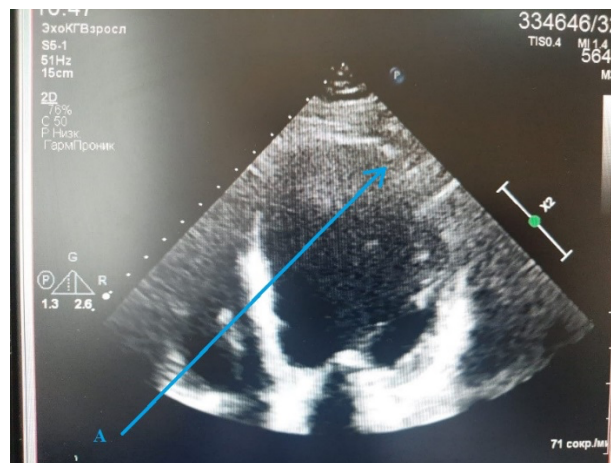


Рисунок 5.26. Пациент К. ЭхоКГ. А. ЭХО-признаки гипокинезии боковой стенки левого желудочка (ушиб сердца).

УЗИ мягких тканей левой нижней конечности: определяются УЗ-признаки скопления жидкости с гнойными массами в латеральной группе мышц левого бедра: глубокая флегмона (Рисунок 5.27).

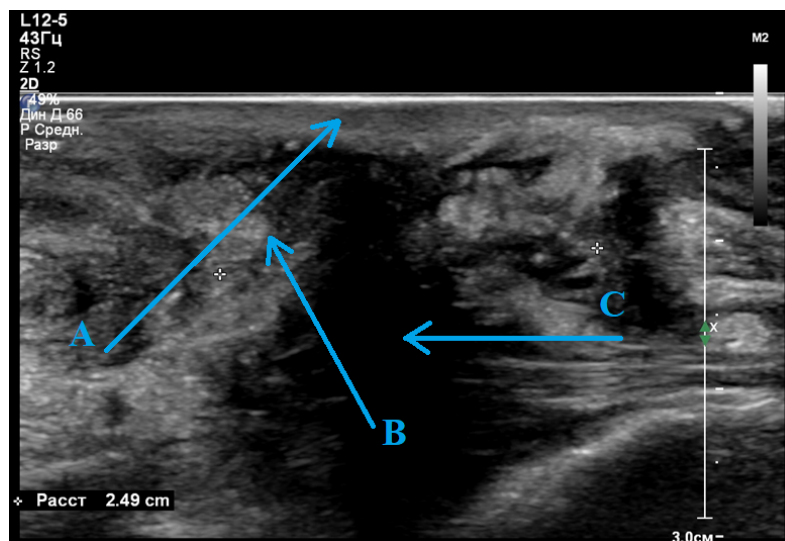


Рисунок 5.27. Пациент К. УЗ: глубокая флегмона левого бедра. А – выраженный диффузный отёк подкожной жировой клетчатки с её гипоэхогенной трансформацией; Б – признаки миозита промежуточной широкой мышцы бедра с нарушением архитектоники и снижением эхогенности мышечной ткани; В – гипо-/анэхогенное жидкостное образование в межфасциальном промежутке между латеральной и промежуточной широкими мышцами бедра.

Установлен диагноз: минно-взрывная травма. Тяжелая сочетанная травма груди, таза, нижних конечностей. Закрытая травма груди с переломами 2, 3 ребер по задней подмышечной линии слева, 4, 5, 6, 7 ребер по средней подмышечной линии со смещением костных отломков. Ушиб сердца. Двусторонний малый гидроторакс. Гидроперикард. Огнестрельное осколочное слепое проникающее ранение таза без повреждения органов с огнестрельным оскольчатый переломом левой и правой подвздошной костей, крыши левой вертлужной впадины со смещением костных отломков, без нарушения целостности тазового кольца, с дефектом мягких тканей пояснично-крестцовой области. Осколочное ранение левого бедра в средней трети с дефектом мягких тканей.

Осложнение: постгеморрагическая анемия тяжелой степени. Глубокая флегмона левого бедра. Острый респираторный дистресс-синдром. Дыхательная недостаточность 2 степени.

Тяжесть ранения и общего состояния в соответствии со шкалами «ВПХ-П (ОР)» (огнестрельное ранение), «ВПХ-СП» (при поступлении), «ВПХ-СГ» (период госпитализации, дважды в сутки) оценена в 30, 23 и 37 баллов, соответственно. С учетом прогностических значений этих шкал, вероятность

осложнений, включая гнойно-септические, у данного пациента соответствовала интервалу 67–90%.

В предоперационном периоде, до определения возбудителя инфекции, назначена эмпирическая антибактериальная терапия, включавшая Меронем 3 г в сутки, Амикацин 1,5 г в сутки и Метрогил 1500 мг в сутки.

После короткой предоперационной подготовки под общей анестезией выполнена экстренная операция: вторичная хирургическая обработка раны мягких тканей левой нижней конечности. Приводим описание местного статуса пациента в операционной: «Визуализируется выраженная отечность левой нижней конечности от паховой складки до тыльной поверхности стопы. По наружной поверхности левого бедра локализуется обширная рана 25x17x15 см., с подрывными, неровными краями, с выступающими отечными мышцами латеральной группы бедра. Мышечные волокна медиальной группы бедра с участками некроза размерами до 7x4 см, мозаично расположенными. При электростимуляции участки мышц не сокращаются, не кровоточат. Из раны левого бедра отмечается обильное гнойно-геморрагическое отделяемое, имеющее неприятный запах по типу «тухлой рыбы», при пальпации и визуально определяется выраженный отек левой нижней конечности» (Рисунок 5.28).

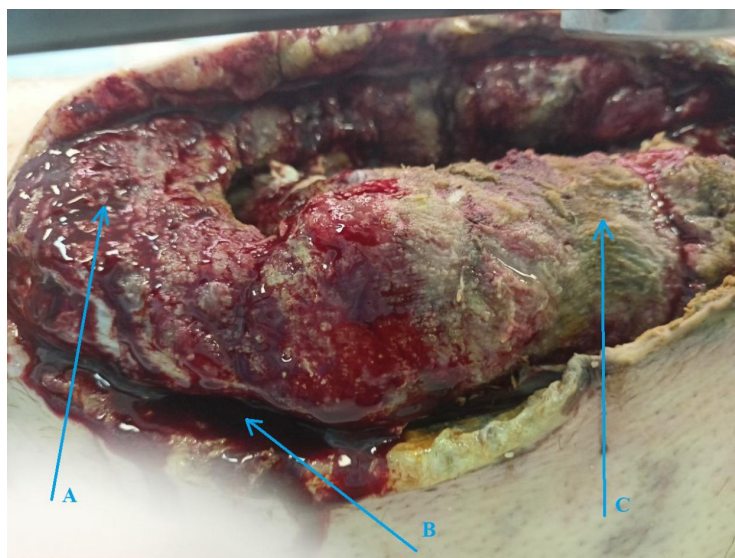


Рисунок 5.28. Пациент К. Операционная рана: А. - отек мышц латеральной группы левого бедра; В. - гнойно-геморрагическое отделяемое из межмышечного пространства латеральной группы левого бедра; С. - мышечные волокна латеральной группы левого бедра с участками некроза.

Во время операции была вскрыта глубокая флегмона левого бедра, взят материал (мазок с раневой поверхности) для микробиологического исследования, идентификации возбудителя и определения его чувствительности к антибиотикам. Оперативное вмешательство завершено установкой в раны левого бедра области вакуум-аспирационной системы (Рисунок 5.29).

Микробиологическое исследование методом MALDI-ToF масс-спектрометрии позволило выделить грамотрицательную факультативно-анаэробную бактерию *Klebsiella pneumoniae* в 10^6 КОЭ/л, с панрезистентностью к карбапенемам и бета-лактамам.

Эмпирическую антибактериальную терапию сменили на этиотропную. В результате, до исчезновения клинических и лабораторных признаков системного воспалительного ответа, был назначен Тигециклин (группа глицилциклинов) в дозировке 50 мг в сутки.



Рисунок 5.29. Пациент К. Рана левого бедра с вакуум-аспирационной системой.

С целью проведения патогенетической терапии, коррекции гемической гипоксии, восстановления плазменных факторов свертываемости крови и проведения плазмообмена проводилось переливание 14 доз одногруппной, резус-совместимой эритроцитной лейкоредуцированной взвеси и 28 доз одногруппной свежемороженой плазмы. Кроме того, проводилась детоксикационная, антикоагулянтная, иммуномодулирующая (иммуноглобулин нормальный,

человеческий пентаглобин в дозировке 50 мг в сутки и сеансы гипербарической оксигенации) и симптоматическая терапия – анальгетики, гастропротекторы, пробиотики, поливитамины.

В период нахождения в хирургическом отделении больницы пациенту было выполнено 9 расширенных перевязок под наркозом, в ходе которых поэтапно иссекали некротизированные ткани, выполняли промывание ран растворами антисептиков (0,02% водный раствор хлоргексидина, 2% водный раствор борной кислоты). Завершались перевязка наложением VAC–системы (5 сеансов). В завершении открытого этапа ведения раны перевязку заканчивали свободным тампонированием широкими турундами, обильно пропитанными мазью «Левомеколь». На фоне проводимой терапии рана левого бедра очистилась, покрылась здоровыми грануляциями (Рисунок 5.30), при рентгенологическом исследовании левой бедренной кости признаков остеомиелита не выявлено.



Рисунок 5.30. Рана левого бедра после проведенного комплексного лечения.

На 22-е сут. после первой операции выполнена аутодермопластика раневого дефекта левого бедра расщепленным кожным лоскутом под общей анестезией (Рисунок 5.31).



Рисунок 5.31. Пациент К. Вид раны левого бедра на первой перевязке после аутодермопластики расщепленным кожным лоскутом.

В условиях операционной, на 3-и сутки неосложненного послеоперационного периода после выполнения аутодермопластики выполнена операция: биоимплантация СВФ-ЖТ методом интрадермального введения в зону гранулирующих послеоперационных ран мягких тканей конечностей (Рисунок 5.32).



Рисунок 5.32. Пациент К. Операция: биоимплантация СВФ-ЖТ по периметру послеоперационной раны.

Послеоперационный период протекал без осложнений. Эпителизация ран завершилась на 15-е сутки после имплантации СВФ-ЖТ. Пациент в

удовлетворительном состоянии был выписан из стационара на 16-е сутки после операции. Восстановление функции левой нижней конечности зарегистрировано на 19-е сутки.

Ближайшие результаты лечения изучены путем проведения контрольных осмотров и анкетирования по методике SF-36 для оценки качества жизни пациента через 30, 90 и 180 сут.

Через 30 сут. пациента беспокоили периодически возникающие боли в области послеоперационных рубцов на наружной боковой поверхности левого бедра. Отека левой нижней конечности нет. Послеоперационные рубцы ярко розового цвета, плотные, незначительно подвижные, без признаков келлоидной трансформации (Рисунок 5.33).



Рисунок 5.33. Пациент К. внешний вид послеоперационных рубцов левой нижней конечности через 30 сут.

Через 90 суток пациент предъявляет жалобы на незначительно выраженные боли в области послеоперационных рубцов на левом бедре, возникающие только при интенсивной физической нагрузке. При осмотре: отека и нарушения функций левой нижней конечности нет, движения в суставах левой нижней конечности в полном объеме, безболезненные. Послеоперационные рубцы бледно-розового цвета, эластичные, подвижные, без признаков келлоидной трансформации (Рисунок 5.34).



Рисунок 5.34. Пациент К. Вид послеоперационных рубцов левой нижней конечности через 90 сут. динамического наблюдения.

Через 180 сут. пациент жалоб не предъявляет, нижние конечности симметричные, гипотрофии мышц нижних конечностей нет, кожные покровы левой нижней конечности чистые, обычной окраски, движения в суставах конечности в полном объеме. Послеоперационные рубцы бледно-розового цвета, мягко-эластической консистенции, подвижные, шириной 1,1 мм (Рисунок 5.35). Результат лечения признан удовлетворительным.



Рисунок 5.35. Пациент К. Внешний вид послеоперационных рубцов левой нижней конечности через 180 сут.

Таким образом, проведенный анализ ближайших и среднесрочных результатов комплексного хирургического лечения и оценка качества жизни

пациентов обеих групп с хирургической инфекцией конечностей в стадии реконвалесценции показал эффективность применения СВФ-ЖТ методом биоимплантации по периметру послеоперационной гранулирующей раны. Разница в сроках достижения эпителизации раны достигала 3 сут., а в сроках восстановления функции конечности – 6 сут. Качество жизни пациентов основной группы существенно повышается к 90 сут. после биоимплантации СВФ-ЖТ. Исходы лечения пациентов основной группы, оцениваемые как неудовлетворительные, составили 4%. Визуальная оценка течения раневого процесса, восстановление функции конечности в обеих группах пациентов с хирургической инфекцией конечностей подтверждает положительное влияние ядросодержащих клеток СВФ-ЖТ, имплантированной в область гранулирующей послеоперационной раны.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пациентам с хирургической инфекцией мягких тканей медицинская помощь организуется согласно ч. 1 ст. 37 Закона № 323 Федерального закона от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации" и оказывается в специализированных хирургических отделениях гнойной хирургии, развернутых на базе крупных многопрофильных медицинских организаций, на основе клинических рекомендаций и с учетом стандартов медицинской помощи.

Существующие методы лечения хирургической инфекции мягких тканей конечностей базируются на общих принципах лечения гнойных ран, которые сведены к следующим постулатам:

1. Анатомичность, физиологичность, косметичность оперативного доступа.
2. Создание одной полости, путем рассечения фасциальных отростков, вскрытие затеков.
3. Щадящее отношение к тканям, прилежащим к гнойной ране.
4. Адекватное дренирование.
5. Проведение этиотропной терапии.
6. Применение современных перевязочных материалов в соответствии с фазами раневого процесса.

В настоящее время разработаны и внедрены в практику новые методы ортобиологического направления регенеративной медицины в лечении глубоких и обширных длительно незаживающих и активно гранулирующих ран различной локализации путем применения одного из наиболее доступных источников клеточного материала – СВФ-ЖТ. Однако медицинские организации далеко не всегда используют в полной мере возможности клеточной терапии. Такое положение вещей зачастую приводит к формированию «триггерных зон» с ухудшением качества жизни пациентов. Указанные последствия влекут за собой необходимость многократного амбулаторного лечения, причем только с временным положительным эффектом.

Практический опыт, накопленный в разных областях клинической медицины, демонстрирует что применение СВФ–ЖТ способно обеспечивать на этапе активно гранулирующей раны уменьшение болевого синдрома, создавать благоприятные условия для эпителизации и рубцевания, включая неоангиогенез, ингибировать избыточную пролиферативную воспалительную реакцию в зоне оперативного вмешательства. Тем не менее, в составе комплексного лечения пациентов с хирургической инфекцией кожи и мягких тканей не содержится упоминаний о целесообразности применения СВФ–ЖТ на этапе пролиферативной фазы раневого процесса.

Следовательно, обобщение ранее накопленных знаний и современных методик лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей является актуальной задачей медицины.

Целью настоящего исследования стало составление стратегии сочетанного применения хирургических методов и клеточных технологий, обеспечивающих улучшение исходов лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей.

Достижение поставленной цели предполагало решение следующих задач:

1. Разработать экспериментальную модель исследования процесса заживления первично-инфицированных открытых повреждений мягких тканей конечностей.

2. Провести морфологические исследования процесса заживления первично-инфицированных открытых повреждений мягких тканей конечностей в эксперименте.

3. Оценить в эксперименте эффективность применения аллогенной стромально–васкулярной фракции жировой ткани и мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток, культивированных из нее в процессе лечения первично-инфицированных открытых повреждений мягких тканей конечностей.

4. Сравнить результаты лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей, которым проведено оперативное лечение по традиционной методике, и получивших на этапе гранулирующей

послеоперационной раны биоимплантацию стромально–васкулярной фракции жировой аутокани по периметру послеоперационной раны.

5. Научно обосновать целесообразность применения стромально–васкулярной фракции жировой аутокани в комплексном лечении пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей.

Концептуально, исследование состояло из двух основных частей – экспериментальной и клинической.

В рамках экспериментальной работы была проверена гипотеза о регенераторных свойствах мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, обладающих фибро- и хондрогенным дифференцировочным потенциалом.

В качестве объекта исследования были использованы 72 беспородных крысы-самца с вариабельной массой тела (от 350 до 425 г).

Предмет исследования: особенности морфологической картины и качественных показателей регенерации при трансплантации аллогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в зону первично инфицированного открытого повреждения пяточного сухожилия у крысы.

На 12 крысах была отработана модель инфицированной раны с вовлечением пяточного сухожилия, еще на 12 особях – технология получения и культивирования ММСК из висцерального жира. Обе серии экспериментов осуществлялись параллельно, преследуя сразу обе цели. Далее, из 48 особей были сформированы две группы – опытная, в которой выполняли трансплантацию ММСК в зону регенерирующей инфицированной раны, и контрольная, в ней данной манипуляции не проводили. Общая продолжительность эксперимента – 10 недель, из них нулевой этап (карантин) 14 суток. Последующие 4 этапа исследования одинаковой продолжительности - 15 суток, с такой периодичностью животных выводили из эксперимента.

В исследовании применялись гистологический, иммуногистохимический, микроморфометрический методы исследования образцов ткани. Изучение общей морфологической картины проводили при помощи светового микроскопа со стократным увеличением после окрашивания гистологических срезов

гематоксилином и эозином или тройного окрашивания по Маллори. Иммуногистохимический анализ выполняли с трансфекцией зелёным флуоресцентным белком (GFP). Для количественной оценки неоангиогенеза исследование гистологических срезов проводили при двухсоткратном увеличении. Результат выражали в виде абсолютного показателя — числа новообразованных кровеносных сосудов на одно поле зрения.

Процедура моделирования первично-инфицированного открытого повреждения пяточного сухожилия включала несколько последовательных этапов. Животное фиксировали в положении на животе, обеспечивая полный доступ к проекции пяточной кости. Учитывая необходимость моделирования инфицированной раны, кожный покров в зоне предполагаемого вмешательства антисептическим раствором не обрабатывали. Хирургический доступ осуществляли через полулунный разрез по латеральной поверхности стопы, выполненный брюшистым скальпелем. Методом гидропрепаровки послойно выделяли анатомическую зону прикрепления пяточного сухожилия к пяточному бугру (энтезис). Непосредственное дозированное повреждение моделировали с помощью многолезового микрохирургического скальпеля специальной конструкции (патент на изобретение РФ № 2779405). Под визуальным контролем наносили серию из десяти параллельных линейных разрезов, строго ориентированных по ходу волокон сухожилия. Края раны ушивали наводящими швами рассасывающимся синтетическим материалом с сохранением диастаза до 0,2 см между краями послеоперационной раны. Гиперемия, отек кожного покрова, серозный экссудат – рассматривались как течение инфекционно-воспалительного процесса, соответствующее запланированной экспериментальной модели.

В ходе проведенного эксперимента получены следующие результаты. При гистологическом исследовании пяточного сухожилия опытного животного через 2 недели с введенными ММСК от начала эксперимента определялись строго упорядоченные мощные пучки коллагеновых волокон без признаков отека. Новообразованный матрикс формировал структуру фиброзно-хрящевого регенерата. Напротив, в контрольной группе расположение волокон носило

хаотичный характер. Результаты иммуногистохимического исследования с помощью зелёного флуоресцентного белка: к 15-м суткам меченые клетки определялись в виде островков, интегрированных в ткань, имеющих фенотип фиброцитов и одиночных хондроцитов. Наличие матрикса между мечеными клетками позволяет утверждать именно о продуктивном участии в регенерации. К 30-м суткам, упорядоченность коллагеновых волокон и их строение дают основание утверждать, что регенерация в области повреждения, при внесении в зону дефекта культуры ММСК, протекает более активно. Обращали на себя внимание группы кровеносных сосудов в толще соединительнотканых структур регенерата в значительно большем объёме, чем в группе контроля, то есть имел место активный неоангиогенез. Медиана новообразованных сосудов в одном поле зрения гистологического препарата опытного животного составила 11, в контрольной группе в 2,5 раза меньше – 5. Таким образом, морфологические характеристики фиброзного регенерата, такие как плотность упаковки коллагеновых волокон, их упорядоченность, состояние кровоснабжения в области повреждения, указывают на положительное влияние клеточной культуры, введённой в область искусственно созданного дефекта.

В основу клинической части исследования положен опыт лечения 105 больных в возрасте от 20 до 72 лет с гнойно-септическими осложнениями травм/ранений и острыми гнойными заболеваниями мягких тканей конечностей, проходивших стационарное лечение в хирургическом отделении ЦВКГ им. П.В. Мандрыка МО РФ в период с 2021 по 2025 гг.

Критерии включения в исследование: наличие хирургической инфекции мягких тканей конечностей; отсутствие рентгенологических признаков остеомиелита костей конечностей, согласие пациента.

Критерии исключения: генерализация хирургической инфекции (сепсис), гематологические заболевания; острые респираторные инфекции; онкологическая патология; аутоиммунные нарушения; эндокринные заболевания (включая сахарный диабет); анорексия и дефицит жировой ткани.

Пациенты, в зависимости от проводимого хирургического лечения на этапе

реконвалесценции, были разделены на две, почти равные по численности, группы — I, или группа сравнения (53 человека) и группа II, или основная группа (52 человека). Меньшее (на одного человека) количество пациентов в основной группе обусловлено выявленным в ходе госпитального обследования онкологическим заболеванием, что являлось одним из критериев исключения.

Группу I составили пациенты, которым хирургическое лечение проведено согласно клиническим рекомендациям, включая применение вакуум-аспирационной терапии со 2-х суток послеоперационного периода, последующую иммобилизацию гипсовой лонгетой или ортезом. В Группу II включены пациенты, которым, помимо аналогичных по характеру и объему лечебных мероприятий, по достижении второй фазы раневого процесса, выполняли биоимплантацию стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ) путем интрадермальных инъекций по периметру гранулирующей послеоперационной раны.

Распределение пациентов в группы происходило случайным образом, чтобы обеспечить сопоставимость. Включение в обе группы осуществлялось проспективно, при этом группа сравнения была сформирована с использованием метода сопоставления пар, или он же "метод ближайшего соседа", – по ключевым критериям (то есть полу, возрасту, локализации поражения и т.д.). Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту, срокам госпитализации, локализации хирургической инфекции, глубине поражения мягких тканей, показателям бактериального воспаления при поступлении.

В свою очередь, каждая группа разделена на две подгруппы, в зависимости от патогенетического фактора заболевания. В подгруппу "а" каждой группы вошли пациенты с гнойными заболеваниями и гнойно-септическими осложнениями механической травмы мягких тканей конечностей. Соответственно, в подгруппу "б" вошли пациенты с огнестрельной травмой. В результате, подгруппа № 1 а Группы I составила 31 человек (58%), № 1 б – 22 человека (42%), из них 17 (77%) пациентов с минно-взрывной травмой, 5 (23%) – с пулевыми ранениями мягких тканей конечностей; подгруппа № 2 а Группы II –

30 человек (58%), № 2 б – 22 (42%) человека, из них 15 пациентов (68%) с минно-взрывной травмой и 7 пациентов (32%) с пулевыми ранениями мягких тканей конечностей, соответственно.

Пациентам подгруппы №1а лечение проводилось инцизионно-дренажным методом. Гнойную рану или очаг хирургической инфекции широко раскрывали, формируя единую полость, после санации ее дренировали поливинилхлоридными полутрубками. Полость заполняли водорастворимой мазью на полиэтиленоксидной основе, проводили иммобилизацию ортезом.

Пациентам подгруппы № 1 б лечение начинали с проведения вторичной хирургической обработки и выполнения вакуум-аспирационной терапии со 2-х суток послеоперационного периода. Послеоперационный период проходил в условиях иммобилизации заинтересованной конечности ортезом. По достижении второй фазы раневого процесса выполняли пластическое закрытие раны путем наложения ранних вторичных швов или закрытие ран свободными расщепленным перфорированным кожным лоскутом.

Пациентам обеих подгрупп Группы II (№2а и №2б) проводилось хирургическое лечение в аналогичной последовательности, как и пациентам Группы I.

В ходе лечения у пациентов обеих групп формировались гранулирующие послеоперационные раны. Определение размеров раневой поверхности на этапе гранулирующей раны проводили с использованием контактного планиметрического метода. Площадь ран варьировала в пределах от 117 до 14 тыс. мм².

Тактика ведения гранулирующих ран определялась их локализацией, и размерами. В 11 случаях из всей когорты пациентов заживление ран прошло через эпителизацию без оперативного вмешательства (в 6 случаях у пациентов Группы I, в 5 случаях у пациентов Группы II) в связи малыми размерами ран. Всего выполнены 94 оперативных вмешательства. Использовались два способа: наложение ранних вторичных швов и аутодермопластика расщепленным перфорированным кожным лоскутом.

С целью объективизации ближайших и среднесрочных результатов лечения поведена сравнительная оценка эффективности "стандартного" хирургического метода лечения (пациенты Группы I) и хирургического метода лечения с биоимплантацией СВФ ЖТ путем инъекций по периметру гранулирующей послеоперационной раны мягких тканей конечностей (пациенты Группы II).

В проведенном исследовании осложнений после биоимплантации СВФ–ЖТ в зону гранулирующей послеоперационной раны мягких тканей конечностей не наблюдалось (не было аллергических, токсических или воспалительных реакций). Вместе с тем в Группе 2 (основной) отмечено более быстрое снижение уровня боли, что обусловлено применением СВФ ЖТ, обладающей эффективным противовоспалительным действием. Несмотря на относительно бóльшую продолжительность иммобилизации конечности у пациентов основной группы, эпителизация раны и восстановление функциональной активности проходили у них быстрее.

Еще одним методом сравнительной оценки эффективности примененных хирургических методов лечения стала оценка качества жизни в ближайшем и среднесрочном периоде. Анализ динамики показателей шкал SF-36 пациентов обеих групп за весь период наблюдения наглядно демонстрирует, что показатели качества жизни пациентов Группы I "отстают" от соответствующих критериев Группы II, и лишь к 90-м суткам достигают значений, зафиксированных на 30-е сутки в основной группе, а к 180-м – соответственно уровня 90-х суток.

С целью определения влияния патогенетического фактора хирургической инфекции конечности на динамику качества жизни, проведен анализ с помощью опросника SF-36 отдельно в подгруппах наблюдения ("а" и "б" каждой группы). При сравнении подгрупп 1 а с 1 б и 2 а с 2 б в отношении динамики показателей качества жизни от 30-х к 180-м суткам установлено, что, в целом, у пациентов с гнойными заболеваниями и гнойно-септическими осложнениями механической травмы мягких тканей конечностей процесс восстановления протекал более благоприятно по сравнению с огнестрельной раной. Так, показатели МН₁₋₃, РF₁₋₃, VT₁₋₃, ВР₁₋₃ и других были в подгруппе 1 а приблизительно на 15-20% выше, чем в

подгруппе 1 б. Аналогично, для пациентов, вошедших в подгруппу 2 а, они были выше, чем в 2 б приблизительно на 10-20%. При этом, анализ внутри подгрупп, от 30-х к 180-м суткам, демонстрирует, что в подгруппе 1 а она в динамике улучшалась (на примере VT): от 33 – к 47 – до 87 (т.е. в 2,5 раза), в подгруппе 1 б от 27 – к 42 – до 81 (в 3 раза), в подгруппе 2 а – от 61 – к 77 – до 98 (в 2,5 раза) в подгруппе 2 б – от 52 – к 72 – до 94 (в 1,7 раза). При интерпретации полученных результатов следует учитывать, что меньший прирост показателей в подгруппе 2 по сравнению с подгруппой 1 связан с их изначально более высокими значениями. Из приведенных данных возможно сделать два важных заключения. Первое: процесс реабилитации после огнестрельной раны протекает менее благоприятно по сравнению с гнойными заболеваниями и гнойно-септическими осложнениями механической травмы мягких тканей конечностей. Второе: применение СВФ в процессе комплексного хирургического лечения в подгруппе 2 способствует лучшей нормализации показателей, характеризующих качество жизни, чем у пациентов подгруппы 1, вне зависимости от патогенетического фактора, приведшего к хирургической инфекции конечности.

Таким образом, проведенный анализ ближайших и среднесрочных результатов хирургического метода лечения с биоимплантацией СВФ ЖТ на стадии гранулирующей послеоперационной раны конечностей позволяет сделать вывод о том, что метод приводит к положительному результату, повышает эффективность лечения способствует более ранней реабилитации пациентов, восстановлению их трудоспособности и, следовательно, является патогенетически обоснованным.

ВЫВОДЫ

1. Разработанная модель первично-инфицированной раны с вовлечением пяточного энтеза у крысы (патент на изобретение № 2779405, опубл. 06.09.2022 г., бюл. №25) является простой и удобной для исследования процессов заживления поврежденных мягких тканей конечности в эксперименте.
2. Подтверждена в эксперименте возможность получения мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток из стромально-васкулярной фракции жировой ткани животных ферментативным способом с последующим культивированием и трансфекцией зеленым флуоресцентным белком в лентивирусном векторе. Доказано встраивание «меченых» мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в структуру капсульно-связочного комплекса пяточного сухожилия. «Меченые» стволовые клетки имеют фенотипы клеток соединительной ткани, что подтверждает их способность к дифференцировке и участию в регенерации поврежденных мягких тканей.
3. В эксперименте *in vivo*, после создания первично-инфицированной раны мягких тканей конечности, репарация протекает более активно, за счет лучшей организации соединительнотканых структур и появления групп новообразованных кровеносных сосудов в результате применения клеточных технологий на основе аутогенных биологически активных материалов.
4. Комплексный анализ ближайших и среднесрочных результатов лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей с применением стромально-васкулярной фракции жировой аутокани позволяет добиться более быстрого закрытия раны, восстановления функции пораженной конечности, способствует профилактике хронического болевого синдрома, сокращению сроков реабилитации и восстановления трудоспособности, улучшению качества жизни пациентов и, в итоге, имеет преимущество перед традиционным методом ведения ран конечностей (частота благоприятных исходов – до 96%).
5. Предложенный способ лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей с применением стромально-васкулярной фракции жировой

аутоткани обеспечивает на этапе гранулирующей послеоперационной раны создание благоприятных условий для эпителизации, ингибирует избыточную воспалительную реакцию в зоне оперативного вмешательства.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная модель первично-инфицированной раны с вовлечением пяточного энтеза у крысы может быть использована для исследования процессов заживления поврежденных мягких тканей конечности в эксперименте, так как эта модель проста в исполнении, воспроизводима, экономична и приводит к стабильно прогнозируемому результату.
2. Технология получения мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток из стромально-васкулярной фракции жировой ткани создает обоснованные предпосылки для продолжения исследований с целью применения в клинической практике.
3. Предложенный способ применения стромально-васкулярной фракции жировой аутоткани целесообразно использовать в процессе комплексного лечения пациентов с хирургической инфекцией мягких тканей конечностей со 2–4 уровнем поражения, обширными послеоперационными ранами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаев Ш., Юсупова Д. Профилактика и лечение послеоперационных рубцов //Library. – 2021. – Т. 21. – №. 1. – С. 1–135.
2. Акрамов Э. Х. и др. Модифицированный способ лечения гнойно-некротических флегмон стопы //Ульяновский медико-биологический журнал. – 2020. – №. 2. – С. 80–89.
3. Аль-Канани Э. С. и др. Лечение гнойной инфекции мягких тканей: от истории к настоящему (литературный обзор) //Актуальные проблемы медицины. – 2020. – Т. 43. – №. 1. – С. 155–164.
4. Андреева В. В., Кузьмина Е. Н. Современный взгляд на классификацию рубцовых деформаций кожи //Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2018. – №. 4 (34). – С. 83–86.
5. Анисин А. В. и др. Особенности взрывной травмы нижних конечностей, защищенных обувью сапера //Судебно-медицинская экспертиза. – 2020. – Т. 63. – №. 5. – С. 13–17.
6. Анисин А. В., Логаткин С. М., Денисов А. В. Антропоморфные манекены для изучения механизма минно-взрывной травмы нижних конечностей и прогнозирования тяжести повреждений //Военно-медицинский журнал. – 2018. – Т. 339. – №. 7. – С. 60–64.
7. Анисин А. В., Логаткин С. М., Денисов А. В. Современное состояние проблемы оценки тяжести взрывной травмы нижних конечностей //Военно-медицинский журнал. – 2019. – Т. 340. – №. 7. – С. 68–69.
8. Анойко Е. А. Рубцовые изменения на коже: этиология, клиника, методы лечения //Бюллетень медицинских интернет-конференций. – Общество с ограниченной ответственностью «Наука и инновации», 2016. – Т. 6. – №. 5. – С. 608–608.
9. Артыков К. П., Саидов М. С., Мухамадиева К. М. Влияние иммуномодулирующей терапии на результаты хирургической коррекции келлоидных рубцов кожи //Доклады Академии наук Республики Таджикистан.

- 2014. – Т. 57. – №. 2. – С. 164–169.
10. Ахтямова Н. Е. Новые подходы в лечении гнойно-воспалительных процессов кожи и подкожной клетчатки //РМЖ. – 2016. – Т. 24. – №. 8. –
 11. Ачкасов Е. Е. и др. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинической практике //Биомедицина. – 2013. – №. 4. – С. 46–59.
 12. Балаганский И., Мержиевский Л. Действие средств поражения и боеприпасов. – Litres, 2022.
 13. Банин В. В. Перициты — это стволовые клетки мезенхимального происхождения? / В. В. Банин // Морфология. – 2017. – Т. 151, № 3. – С. 58.
 14. Блатун Л. А. и др. Гнойно-некротические поражения кожи и мягких тканей. Тактика местного медикаментозного лечения //Гастроэнтерология. Хирургия. Интенсивная терапия. Consilium Medicum. – 2019. – №. 2. – С. 53–62.
 15. Блатун Л.А. и др. Хирургические инфекции кожи и мягких тканей // Терапевтический справочник. Путеводитель врачебных назначений. – 2019. – №. Избранное. – С. 121–132.
 16. Бочкова Т. В., Ганцев Ш. Х. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в различных областях медицины //Медицинский вестник Башкортостана. – 2019. – Т. 14. – №. 5 (83). – С. 61–67.
 17. Брико Н. И. и др. Профилактика инфекций области хирургического вмешательства. – 2018.
 18. Бякова Е. Н., Татьянченко В. К., Красенков Ю. В. Комплексное лечение флегмоны ягодичной области и компартмент-синдрома //Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2020. – Т. 15. – №. 1. – С. 80–83.
 19. Вахаев Д. С. и др. Аутокровь и ее компоненты в клинической медицине //Вестник Национального медико-хирургического Центра им. НИ Пирогова. – 2021. – Т. 16. – №. 1. – С. 151–157.
 20. Веремеев А. В. и др. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины //Гены и клетки. – 2016. – Т. 11. – №. 1. – С. 35–42.
 21. Винник Ю. С. и др. Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении

- длительно не заживающих ран //Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. 4. – №. 2. – С. 392–397.
22. Вишневецкий Кирилл Валерьевич. "Основная характеристика взрывов и взрывных устройств. «Общество и право» 3 (35) (2011): 260–267.
 23. Войновский Е. А. и др. Гнойные осложнения ампутаций нижних конечностей при минно-взрывных ранениях //Медицинский вестник МВД. – 2015. – №. 6. – С. 16–19.
 24. Войно-Ясенецкий В. Ф. Очерки гнойной хирургии. – 2006.
 25. Володин Н. Н., Андрейцев А. Н., Владимиров В. Г. Н. И. Пирогов-основоположник хирургической анатомии. «Ледяная анатомия» и компьютерная томография //Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2010. – №. 5. – С. 62–69.
 26. Гавриленко А. В., Воронов Д. А. Результаты комплексного лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей с использованием генных технологий стимуляции ангиогенеза (часть 2) //Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т. 21. – №. 4. – С. 29–34.
 27. Гаербекоев А. Ш., Зайцев П. П., Татьянченко В. К. Этиопатогенетические аспекты формирования гнойно-воспалительных процессов мягких тканей верхней конечности //Московский хирургический журнал. – 2025. – №. 1. – С. 122–126.
 28. Гайворонский И. В. и др. Эволюция научных направлений кафедры нормальной анатомии Военно-медицинской на этапах истории //Актуальные вопросы анатомии. – 2020. – С. 12–14.
 29. Гатиатулина Е. Р. и др. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани: механизм действия, перспективы и риски местного применения //Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2019. – №. 2. – С. 43–48.
 30. Гельфанд Б. Р. и др. редакционный совет //Хирургические инфекции кожи и мягких тканей. Российские национальные рекомендации. М.: Издательство МАИ. – 2015. – Т. 109.
 31. Гиляревский С. Р. и др. Алгоритм ведения больных с предполагаемым

- закрытым повреждением сердца //Журнал им. НВ Склифосовского Неотложная медицинская помощь. – 2013. – №. 1. – С. 55–61.
32. Глухов А. А., Аралова М. В. Патофизиология длительно незаживающих ран и современные методы стимуляции раневого процесса //Новости хирургии. – 2015. – Т. 23. – №. 6. – С. 673–679.
33. Гончаров Н. А. и др. Место кинезиотейпирования в лечении гнойно-воспалительных заболеваний кисти //Московский хирургический журнал. – 2021. – №. 3. – С. 51–56.
34. Горб Л. И. и др. Гнойно-воспалительные заболевания пальцев и кисти. – 2019.
35. Гостищев В.К. и др. Клиническая оперативная гнойная хирургия. – 2016.
36. Гуманенко Е. К. и др. Тяжелая сочетанная травма и политравма: определение, классификация, клиническая характеристика, исходы лечения //Политравма. – 2021. – №. 4. – С. 6–17.
37. Гуманенко Е. К., Тынянкин Н. А. Военно-полевая хирургия вчера и сегодня //Военно-медицинский журнал. – 2006. – Т. 327. – №. 9. – С. 70–72.
38. Давыдов Д. В. и др. Вакуумная терапия при огнестрельных и взрывных ранениях конечностей: основные принципы, преимущества и недостатки //ББК 54.5 Б75. – 2025. – С. 138.
39. Денисов А. В. и др. Разработка шкалы тяжести минно-взрывной травмы нижних конечностей у мужчин //Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2021. – Т. 23. – №. 3. – С. 195–204.
40. Денисов А. В. и др. Структура и характер современной боевой хирургической травмы //Военно-медицинский журнал. – 2021. – Т. 342. – №. 9. – С. 12–20.
41. Дерий Э. К. и др. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами и стромально-васкулярной клеточной фракции жировой ткани в хирургии и комбустиологии (обзор литературы) //Таврический медико-биологический вестник. – 2022. – Т. 25. – №. 3. – С. 174–181.
42. Дыгай А. М., Жданов В. В. Теория регуляции кроветворения в норме и при

- патологии //Сибирский научный медицинский журнал. – 2012. – Т. 32. – №. 1. – С. 21–30.
43. Дыгай А. М., Скурихин Е. Г. Стволовая клетка. Новые подходы в терапии дегенеративных заболеваний //Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2012. – Т. 56. – №. 2. – С. 3–13.
44. Еремин И.И., Васильев В.С., Гурба М.А., Брико А.Н., Котенко К.В. Методы выделения стромально-васкулярной фракции жировой ткани. Литературный обзор. Пластическая хирургия и эстетическая медицина. 2023;(4, вып. 2):68–75.
45. Есипов А. В. и др. Величина и структура изолированных ранений конечностей в современных локальных конфликтах (Обзор литературы) //Военно-медицинский журнал. – 2023. – Т. 344. – №. 3. – С. 33–39.
46. Ефименко Н. А., Самохвалов И. М. Значение хирургического опыта Великой Отечественной войны для современной военно-полевой хирургии //Военно-медицинский журнал. – 2015. – Т. 336. – №. 5. – С. 8–12.
47. Затолокина, М. А. Морфологическое обоснование применения богатой тромбоцитами аутоплазмы в комплексном лечении раневого дефекта кожного покрова / М. А. Затолокина // Региональный вестник. – 2020. – Т.46 – № 7. – С. 3–4.
48. Земляной А. Б., Афиногенова А. Г., Матвеев С. А. Применение антисептиков в лечении ран с высоким риском инфицирования //Вестник национального медико-хирургического центра им. НИ Пирогова. – 2020. – Т. 15. U (№. 2.) – С. 129–137.
49. Зорина А. И., Зорин В. Л. Стромально-васкулярная клеточная фракция: возможности применения в эстетической медицине //Косметическая медицина. – 2018. – №. 2. – С. 4–5.
50. Зубрицкий В. Ф. и др. Применение регионарной внутриартериальной перфузии при комплексном лечении минно-взрывной травмы нижних конечностей, осложненной раневой инфекцией (в период проведения специальной военной операции в Луганской и Донецкой народных республиках и на Украине)/В. Ф. Зубрицкий, А.С. Ковалев, А.Л. Левчук, Е.М. Фоминых

- //Медицинский вестник МВД. – 2022. – №. 4. – С. 119.
51. Зубрицкий В. Ф., Левчук А. Л., Фоминых Е. М. Хирургическая инфектология. Том I. – 2024.
 52. Иванов А. Н. и др. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции //Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – Т. 13. – №. 4. – С. 4–11.
 53. Иванов А. Н. и др. Факторы, регулирующие ангиогенез //Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №. 5.
 54. Ивченко Е. В. и др. Экспериментальные исследования минно-взрывных ранений нижних конечностей и основные принципы их лечения //Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2011. – №. 4. – С. 94–96.
 55. Каган И. И., Колесников Л. Л. Топографоанатомические термины как составная часть международной анатомической терминологии //Морфология. – 2011. – Т. 139. – №. 2. – С. 92–101.
 56. Карпюк В. Б. и др. Оценка эффективности аутотрансплантации обогащенной васкулярно-стромально-клеточной фракцией жировой ткани при контурной пластике мягких тканей лица //Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – №. 4. – С. 57–63.
 57. Карпюк В. Б. и др. Стромальные клетки жировой ткани в регенеративной хирургии //Инновационная медицина Кубани. – 2018. – №. 3 (11). – С. 64–71.
 58. Касимов Р. Р. и др. Структура боевой хирургической травмы и особенности оказания хирургической помощи в передовых медицинских группах в активную фазу боевых действий //Военно-медицинский журнал. – 2024. – Т. 345. – №. 7. – С. 4–12
 59. Керимов А.А. и др. Алгоритм лечения огнестрельных ранений и взрывных поражений конечностей с дефектами мягких тканей // Хирург. – 2025. – № 7–8(208). – С. 50–58.
 60. Кислов М. А. и др. Современное состояние вопроса взрывной травмы //Судебно-медицинская экспертиза. – 2021. – Т. 64. – №. 4. – С. 68–72.
 61. Кобзева И. В. и др. Стромально-васкулярная фракция–перспективный

- клеточный продукт для клинического применения //ББК 53.6 С232. – 2025. – Т. 3. – С. 254.
62. Ковалёва Л. Н. Клинико-морфологические параллели у пациентов с рубцовой патологией кожи //Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. – 2016. – Т. 1. – С. 108–117.
63. Кованов В. В., Травин А. А. Хирургическая анатомия верхних конечностей. – 1965.
64. Козлов А. И. Долгий путь от анатомической антропологии к вариантной анатомии //Вестник Московского университета. Серия 23. Антропология. – 2025. – №. 1. – С. 133–143.
65. Козлов В. К., Ахмедов Б. Г., Чилилов А. М. Клинический опыт применения различных методик комплексного лечения раненых с огнестрельными переломами костей конечностей //Хирургия. Журнал им. НИ Пирогова. – 2017. – №. 3. – С. 61–69.
66. Колодкин Б. Б. Лечебно-диагностический алгоритм в хирургии гнойных заболеваний кисти и пальцев //Автореферат дисс. к. м. н. М. – 2019. – С. 44–46.
67. Костив Р. Е., Калиниченко С. Г., Матвеева Н. Ю. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение //Тихоокеанский медицинский журнал. – 2017. – №. 1. – С. 10–16.
68. Костяков Д. В. и др. Первый опыт применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток и аутоплазмы при аутодермопластике //Журнал Неотложная хирургия им. И.И. Джанелидзе. – 2021. – №. S1. – С. 35–36.
69. Косыгина А. В. Адипоцитокнины в научной и клинической практике //Ожирение и метаболизм. – 2011. – №. 1. – С. 32-39. [Kosygina A.V. Adipocytokines in scientific and clinical practice / A.V. Kosygina // Obesity and metabolism. – 2011. – No. 1. – pp. 32-39 (In Russ)].
70. Кочин И. В. Особенности медико-санитарных потерь и организации экстренной медицинской помощи населению и военнослужащим в зоне проведения антитеррористической операции //Медицина неотложных

- состояний. – 2015. – №. 6 (69). – С. 44–51.
71. Крайнюков П. Е. и др. Гнойно-воспалительные заболеваниями кисти: современные особенности комплексного лечения //Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2016. – Т. 11. – №. 3. – С. 48–54.
72. Крайнюков П. Е. и др. Использование метода масс-спектрометрии микробных маркеров в этиологической диагностике гнойно-воспалительных заболеваний кисти //Вестник Национального медико-хирургического Центра им. НИ Пирогова. – 2020. – Т. 15. – №. 4. – С. 52–55.
73. Крайнюков П. Е. и др. Применение клеточных технологий в лечении ран различной этиологии //Вестник Национального медико-хирургического центра им. НИ Пирогова. – 2021. – Т. 16. – №. 2. – С. 132–137.
74. Крайнюков П. Е. Комплексное лечение гнойных заболеваний кисти: дис. д-ра мед. наук – М.: Нац. медико-хирург. Центр им. НИ Пирогова, 2013. - 421 с.
75. Крайнюков П. Е., Кокорин В. В., Матвеев С. А. Иммобилизация в хирургии гнойно-воспалительных заболеваний кисти. – 2020.
76. Красенков Ю. В. и др. Влияние степени выраженности тканевой гипертензии на лечение больных с межмышечной флегмоной конечностей //Вестник Национального медико-хирургического Центра им. НИ Пирогова. – 2019. – Т. 14. – №. 3. – С. 83–86.
77. Красенков Ю. В. и др. Новые технологии комплексного подхода к лечению флегмоны верхней конечности и компартмент-синдрома //Главный врач Юга России. – 2023. – №. 1 (87). – С. 14–18.
78. Красенков Ю. В. и др. Хроническая тканевая гипертензия у пациентов, оперированных по поводу межмышечных флегмон верхней конечности (диагностика, лечение, профилактика) //Вестник Национального медико-хирургического центра им. НИ Пирогова. – 2025. – Т. 20. – №. 2. – С. 76–79.
79. Красенков Ю.В. и др. Миофасциальный синдром верхней конечностей у больных межмышечной флегмоной плеча и предплечья // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2023. – Т.

18. – № 4. – С 83–88.
80. Красенков Ю.В. и др. Опыт лечения пациента с компартмент-синдромом, развившимся вследствие флегмоны плеча // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2023. – Т. 18. – № 3. – С.154-156
81. Кудряшова И. С. и др. Разработка раневых покрытий для регенеративной медицины //Вестник восстановительной медицины. – 2021. – Т. 20. – №. 6. – С. 84–95.
82. Кумахова, Ю. Р. Концепция тактической медицины. Особенности оказания медицинской помощи при минно-взрывных поражениях в зоне боевых действий / Ю. Р. Кумахова, Л. А. Зиброва // Патриотическое воспитание молодежи: проблемы истории и современности: Сборник материалов всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Ростов-на-Дону, 25–26 ноября 2022 года / Сост. А.И. Абрамова. – Ростов-на-Дону: Ростовский государственный медицинский университет, 2023. – С. 489–495.
83. Левин Я. И., Корячкин В. А. НИ Пирогов—основоположник отечественной анестезиологии. К 175-летию первого анестезирования, проведенного НИ Пироговым //Анестезиология и реаниматология. – 2022. – №. 1. – С. 132–138.
84. Липатов В. А. Патогенез раневого процесса и подходы к лечению гнойных ран //Хирургия. – 2005. – Т. 10. – С. 22–25
85. Любарский М. С. и др. Применение стромальных клеток жировой ткани для стимуляции ангиогенеза //Материалы IV Всероссийского симпозиума с международным участием: «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». Санкт-Петербург. – 2010. – Т. 21. – С. 22.
86. Макаревич П. И. и др. Трансплантация клеточных пластов из мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани эффективно индуцирует ангиогенез в ишемизированных скелетных мышцах //Гены и клетки. – 2015. – Т. 10. – №. 3. – С. 68–77.
87. Малыхина В. В., Яковлев Г. Е. Методы изучения анатомии: со времён Пирогова до наших дней //Вестник оперативной хирургии и топографической

- анатомии. – 2020. – Т. 1. – №. 1 (01). – С. 36–41.
88. Мамакеев К. М. и др. Современные принципы лечения гнойных ран мягких тканей (обзор литературы) //Бюллетень науки и практики. – 2024. – Т. 10. – №. 4. – С. 333–344.
89. Мантурова Н. Е., Круглова Л. С., Стенько А. Г. Рубцы кожи //Клинические проявления, диагностика и лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2021. – Т. 208.
90. Масимов М. О. Профилактика и лечение гнойно-некротических осложнений и последствий тяжелой огнестрельной травмы конечностей на этапе специализированной хирургической помощи //Травматология и ортопедия России. – 2005. – №. 2. – С. 26–34.
91. Мельникова Е. В. и др. Международный опыт нормативно-правового регулирования препаратов, содержащих жизнеспособные клетки человека //БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2018. – Т. 18. – №. 3. – С. 150–160.
92. Меркулов Д. С., Фисталь Э. Я., Демчук В. О. Современные аспекты лечения боевой хирургической травмы //Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2024. – Т. 27. – №. 1. – С. 82–89.
93. Мищук А. С., Сазонова Д. М., Домарев М. А. Современные методы лечения минно-взрывных травм, полученных в боевых условиях //Молодой ученый. – 2024. – Т. 21. – №. 520. – С. 33–36.
94. Морозов А. М. и др. Современный подход к антибактериальной терапии в практике хирурга //Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. – 2021. – №. 2 (50). – С. 79–86.
95. Муромцева Е. В. и др. Лечение ран в зависимости от фазы раневого процесса //Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2022. – №. 3 (63). – С. 93–109.
96. Мухамеджанов К. Х. и др. Ультразвуковая семиотика гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей //Вестник хирургии Казахстана. – 2015. – №. 4 (45). – С. 58–62.
97. Нечаев Э. А., Миннуллин И. П., Фомин Н. Ф. Минно-взрывные поражения-

- глобальная проблема человечества //Медицина катастроф. – 2010. – №. 2. – С. 34–36.
98. Нечаев Э. А., Миннуллин И. П., Фомин Н. Ф. Минно-взрывные поражения-глобальная проблема человечества //Медицина катастроф. – 2010. – №. 2. – С. 34–36.
99. Никитюк Д. Б. и др. О втором издании Международной анатомической терминологии и ее русском эквиваленте //Оперативная хирургия и клиническая анатомия. – 2022. – Т. 6. – №. 3. – С. 56–67.
100. Ниязов Б. С. и др. Современный взгляд на этиологию и патогенез раневого процесса (обзор литературы) //Бюллетень науки и практики. – 2020. – Т. 6. – №. 12. – С. 176–190.;
101. Новик А. А. Руководство по исследованию качества жизни в медицине / А. А. Новик; А. А. Новик, Т. И. Ионова; под ред. Ю. Л. Шевченко; Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Национальный медико-хирургический центр им. Н. И. Пирогова, Институт усовершенствования врачей НМХЦ им. Н. И. Пирогова. – 4-е издание, переработанное и дополненное. – Москва: Российская академия естественных наук, 2021. – 22–23.
102. Новик А. А., Иванов Р. А. Клеточная терапия/под ред. //Ю.Л. Шевченко. М.: МИА. – 2008.
103. Овчинникова В. Г., Макеев Д. А. Гений русского хирурга и ученого-анатома Н.И. Пирогова //Теория и практика современной науки. – 2018. – №. 4 (34). – С. 693–697.
104. Оприщенко А. А., Штутин А. А. Клинико-эпидемиологическая характеристика открытых боевых повреждений нижних конечностей в условиях военного конфликта в Донбассе //Университетская клиника. – 2018. – №. 1 (26). – С. 20–25.
105. Оприщенко А. А., Штутин А. А., Коктышев И. В. Тактика пластического закрытия огнестрельных раневых дефектов нижней конечности //Университетская клиника. – 2019. – №. 1 (30). – С. 48–53.

106. Орлова Ю. М. и др. Оценка эффективности применения стромально-вазкулярной клеточной фракции при операциях на лице //Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – №. 3. – С. 5–15.
107. Орлова Ю.М., Мантурова Н.Е., Вербо Е.В., Устюгов А.Ю. Оценка эффективности применения стромально-вазкулярной клеточной фракции при операциях на лице. Пластическая хирургия и эстетическая медицина. 2021; 3:5–15
108. Павлов В. Н. и др. Стромально-вазкулярная фракция: биология и потенциальное применение //Креативная хирургия и онкология. – 2021. – №. 1. – С. 92–99.
109. Парамонов Б. А. Современное состояние теории и практики лечения рубцов кожи (взгляд на проблему) //Косметика и медицина. – 2015. – №. 4. – С. 28-34.
110. Петренко Н. А. и др. Клиническая эффективность комплексного многофакторного подхода к лечению флегмон предплечья //Ульяновский медико-биологический журнал. – 2017. – №. 2. – С. 104–110.
111. Пильников С. А. и др. Гнойные осложнения ампутаций нижних конечностей при минно-взрывной травме //Вестник Национального медико-хирургического центра им. НИ Пирогова. – 2020. – Т. 15. – №. 1. – С. 62–67.
112. Пильников С. А. Лечение раненых с отрывами нижних конечностей при минно-взрывных ранениях //Москва. – 2020.
113. Пирогов Н. И. Вопросы жизни. Дневник старого врача/сост. АД Тюриков. – 2008.
114. Пирогов Н. И. Хирургическая анатомия артериальных стволов и фасций/Пер. с нем. под ред. и с прим. С. Коломнина //Коломнина. – 1881. – №. 38. – С. 132.
115. Полушин Ю. С. Взрывные поражения (лекция) //Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2022. – Т. 19. – №. 6. – С. 6–17.
116. Привольнев В. В. и др. Местное лечение ран и раневой инфекции по результатам анонимного анкетирования хирургов России //Раны и раневые инфекции. Журнал имени профессора Б.М. Костючѐнка. – 2016. – №. 1. – С. 19–

- 24.
117. Привольнев В. В., Зубарева Н. А., Каракулина Е. В. Местное лечение раневой инфекции: антисептики или антибиотики? //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19. – №. 2. – С. 131–138.
118. Привольнев В. В., Каракулина Е. В. Основные принципы местного лечения ран и раневой инфекции //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – Т. 13. – №. 3. – С. 214–222.
119. Пронина Е. А. и др. Особенности ангиогенеза при регенерации тканей кожи //Саратовский научно-медицинский журнал. – 2019. – Т. 15. – №. 1. – С. 104–107.
120. Республика К. О крайних формах индивидуальной анатомической изменчивости органов и систем. Прикладное значение фасции. – 2013.
121. Родин А. В., Шилина А. А. Выбор антибиотика для предупреждения рецидивов рожи //Амбулаторная хирургия. – 2019. – №. 3–4. – С. 62–69
122. Романец О. П. Методы оптимизации лечения и профилактики рубцов: дис. – Ин-т хирургии им. АВ Вишневского РАМН, 2016.
123. Рутенбург Д. Г. Гнойные заболевания верхней конечности: дис. – Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования, 2011.
124. Рутенбург Д. Г. и др. Клинико-эпидемиологические особенности гнойно-воспалительных заболеваний верхней конечности // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2011. – №. 1. – С. 142–150.
125. Самохвалов И. М. и др. Военно-полевая хирургия в 2031 году //Военно-медицинский журнал. – 2021. – Т. 342. – №. 9. – С. 4–11.
126. Самохвалов И. М. и др. Военно-полевая хирургия. – 2021
127. Самохвалов И. М. и др. Кафедре военно-полевой хирургии-90 лет //Военно-медицинский журнал. – 2021. – Т. 342. – №. 9. – С. 89–94.
128. Самохвалов И. М. и др. Сравнительное исследование основных характеристик взрывной патологии военного и мирного времени //Московский хирургический журнал. – 2022. – №. 4. – С. 58–64

129. Самохвалов И. М., Бадалов В. И., Тынянкин Н. А. Кафедре и клинике военно-полевой хирургии военно-медицинской академии им. С.М. Кирова-85 лет //Вестник хирургии имени И.И. Грекова. – 2017. – Т. 176. – №. 1. – С. 115–119.
130. Самсон А. А., Кузьмин Ю. В., Самсон М. А. Антибактериальная терапия гнойных ран //Медицина неотложных состояний. – 2018. – №. 7 (94). – С. 13–18.
131. Светозарский Н. Л., Артифексова А. А., Светозарский С. Н. Фактор роста эндотелия сосудов: биологические свойства и практическое значение (обзор литературы) //Journal of Siberian Medical Sciences. – 2015. – №. 5. – С. 24.
132. Смышляев И.А. Применение аутологичных регенеративных клеток жировой ткани для лечения дегенеративных заболеваний коленного сустава. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 14.01.15., 2018г.
133. Сонголов Г. И. Клиническая анатомия Пирогова - выдающееся научное свершение и приоритет России //Байкальский медицинский журнал. – 2011. – Т. 107. – №. 8. – С. 112–118.
134. Сонис А. Г. и др. Гнойно-воспалительные заболевания пальцев кисти и стопы (введение в проблему) //Московский хирургический журнал. – 2020. – №. 1. – С. 62–69.
135. Сонис А. Г. и др. Гнойно-воспалительные заболевания пальцев кисти и стопы (введение в проблему) //Московский хирургический журнал. – 2020. – №. 1. – С. 62–69.
136. Сонис А. Г. и др. Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в лечении пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, костей и суставов //Аспирантский вестник Поволжья. – 2016. – №. 5–6. – С. 162–167.
137. Старцева О. И. и др. Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани: современный взгляд, актуальность и перспективы применения в пластической хирургии //Research'n Practical Medicine Journal. – 2016. – Т. 3. – №. 3. – С. 68–75.

138. Стенько А. Г. и др. Вопросы эффективной терапии рубцовых деформаций //Медицинский алфавит. – 2019. – Т. 2. – №. 26. – С. 62–66.
139. Степанкина Е. С. и др. Причины и патогенез формирования патологических рубцов кожи (обзор литературы) //Вестник восстановительной медицины. – 2017. – №. 1. – С. 103–110.
140. Степанова Т. В. и др. Маркеры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы) //Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – Т. 64. – №. 1. – С. 34–41.
141. Страхов М. А. Немного об ортобиологии //Opinion Leader. – 2018. – №. 2. – С. 106-109. [Strakhov, M. A. A little bit about orthobiology / M. A. Strakhov // Opinion Leader. – 2018. – № 2(10). – PP. 106-109 (In Russ)].
142. Страхов М.А. Регенеративные технологии в травматологии и ортопедии // Opinion Leader. – 2020. – № 6(35). – С. 4–10. [M. A. Strakhov. Regenerative technologies in traumatology and orthopedics // Opinion Leader. – 2020. – № 6 (35). – pp. 4-10 (In Russ)].
143. Табалдыев А. Т. Современные методы лечения гнойных ран и их эффективность //Бюллетень науки и практики. – 2022. – Т. 8. – №. 12. – С. 311–319.
144. Татаринцев А. В. и др. Дефекты диагностики и лечения хирургических инфекций кожи и мягких тканей на догоспитальном этапе //Медицинская экспертиза и право. – 2013. – №. 2. – С. 40–42.
145. Татьянченко В. К. и др. Клиническая эффективность новых технологий профилактики гипертрофических рубцов у больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей //Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова. – 2019. – Т. 14. – №. 2. – С. 94–97.
146. Татьянченко В. К. и др. Способ профилактики гипертрофических рубцов при лечении флегмон мягких тканей. – 2016.
147. Татьянченко В. К. и др. Тактика лечения больных с флегмонами мягких тканей разной локализации с учетом оценки стадии развития внутритканевого гипертензионного синдрома //Журнал МедиАль. – 2017. – №. 2 (20). - С. 21–24.

148. Терюшкова Ж. И. и др. Исследование биоматериала из жировой ткани, используемого в лечении постлучевых повреждений прямой кишки //Медицинский вестник Башкортостана. – 2018. – Т. 13. – №. 3 (75). – С. 36–42.
149. Терюшкова Ж. И. и др. Липографтинг и стромально-васкулярная фракция жировой ткани в лечении пациенток с постлучевыми ректовагинальными свищами //Газовая хирургия и онкология. – 2019. – Т. 9. – №. 1. – С. 34–41.
150. Третьяков А. А. и др. Лечение гнойных ран //Новости хирургии. – 2015. – Т. 23. – №. 6. – С. 680–687.
151. Тришкин Д. В. и др. Эволюция концепции оказания медицинской помощи раненым и пострадавшим с повреждениями опорно-двигательного аппарата //Военно-медицинский журнал. – 2020. – Т. 341. – №. 2. – С. 4–11.
152. Тришкин Д.В. и др. Тысяча дней специальной военной операции. Избранные вопросы медицинского обеспечения /Под ред. Д.В. Тришкина – М.: 2024. –321 с.
153. Тришкин Д. В. и др. Военно-полевая хирургия. Национальное руководство. – 2024. – 1056 с.
154. Федянин С. Д. и др. Система лечения хирургических инфекций кожи и мягких тканей //Актуальные вопросы и современные подходы в оказании хирургической помощи в Республике Беларусь. – 2021. – С. 324–326.
155. Фирсов М. С. и др. Новые технологии в хирургическом лечении флегмон ягодичной области //Современные тенденции развития науки и технологий. – 2017. – С. 124.
156. Фисун А. Я. и др. Пути снижения летальности в современной гибридной войне: раненого к хирургу или хирургию к раненому? //Военно-медицинский журнал. – 2020. – Т. 341. – №. 1. – С. 20–29.
157. Фомин Н. Ф., Симбирцев С. А. Роль кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Военно-медицинской академии им. СМ Кирова в развитии пироговской анатомии в России (к 150-летию со дня основания кафедры) //Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2015. – №. 2. – С. 240–245.

158. Харченко Ю. А. Адекватная оценка боли — залог её успешного лечения //Universum: медицина и фармакология. – 2014. – №. 4 (5). – С. 4.
159. Хоминец В. В. и др. Опыт лечения пострадавшего с тяжелой механической травмой нижней конечности на фоне некомпенсированной ишемии (клинический случай) //Травматология и ортопедия России. – 2020. – Т. 26. – №. 1. – С. 153–163.
160. Хоминец В. и др. Лечение раненных в конечности в войнах и вооруженных конфликтах. – 2021.
161. Храмцова Н. И. и др. Применение методики аутотрансплантации жировой ткани у пациентов с контурными деформациями, дефектами кожи и мягких тканей //Пермский медицинский журнал. – 2022. – Т. 39. – №. 4. – С. 97–107.
162. Черданцева Т. М. и др. Роль клеток стромы в ангиогенезе кожных ран: обзор литературы //Наука молодых–Eruditio Juvenium. – 2023. – Т. 11. – №. 2. – С. 271–280.
163. Шаповалов В.М. Военная травматология и ортопедия. – СПб.: ВМедА, 2014. – 547 с.
164. Шевченко Ю. Л. и др. Современные возможности комплексного лечения гнойных ран //Вестник Национального медико-хирургического центра им. НИ Пирогова. – 2009. – Т. 4. – №. 2. – С. 9–12.
165. Шевченко Ю.Л., Каганов Б.С. Не от мира сего. Москва: ООО Изд-во «Династия», 2021. 1104 с.
166. Шестакова В. Г., Баженов Д. В., Банин В. В. Связь васкуляризации регенерата кожи с пролиферативной активностью его клеток. Морфология. 2017; 151(3): 37–40.
167. Шестакова В.Г. Стимулированный ангиогенез и его роль в репаративной регенерации кожи. Журнал анатомии и гистопатологии. 2018;7(3):117-124.
168. Штутин А. А., Михайличенко В. Ю., Штутин И. А. Пластика глубоких раневых дефектов конечностей лоскутами с осевым типом кровоснабжения //Медицинский вестник МВД. – 2020. – №. 4. – С. 17–21.
169. Эдилов А. В. и др. Интенсификация комплексного лечения больных с

- флегмоной стопы //Ульяновский медико-биологический журнал. – 2019. – №. 3. – С. 28–33.
170. Юрова Ю. В., Зиновьев Е. В., Крылов К. М. Способ прогнозирования характера рубцовой ткани при лечении ожоговых ран //Вестник хирургии имени ИИ Грекова. – 2019. – Т. 178. – №. 6. – С. 47–52.
171. Яковлев А. Е. Вклад профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого в развитие отечественной гнойной хирургии: дис. – С.-Петерб. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова, 2013:
172. Ahluwalia A., Tiwari K., Somashaker N. Acute compartment syndrome in the limb //British Journal of Hospital Medicine. – 2020. – Т. 81. – №. 5. – С. 1-6.
173. Ahrenholz DH. Necrotizing soft-tissue infections //Surgical Clinics of North America. – 1988. – Т. 68. – №. 1. – С. 199-214.
174. Ahrenholz DH Necrotizing fasciitis and other infections. In: Rippe J.M., Irwin R.S., Alpert J.S., Fink M.P. (eds) Intensive Care Medicine, 2nd ed Boston, Little, Brown, 1991, p.1334.
175. Barrigah-Benissan K. et al. Antiseptic agents for chronic wounds: a systematic review //Antibiotics. – 2022. – Т. 11. – №. 3. – С. 350.
176. Barry F. P., Murphy J. M. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization // The international journal of biochemistry & cell biology. – 2004. – Т. 36. – №. 4. – С. 568-584.
177. Bigliardi P. L. et al. Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices //International Journal of Surgery. – 2017. – Т. 44. – С. 260-268.
178. Bodnar R. J. et al. IP-10 induces dissociation of newly formed blood vessels //Journal of cell science. – 2009. – Т. 122. – №. 12. – С. 2064-2077.
179. Bourin P. et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT) // Cytotherapy. – 2013. – Т. 15. – №. 6. – С. 641-648.

180. Broadhurst P. K., Robinson L. R. Compartment syndrome: Neuromuscular complications and electrodiagnosis //Muscle & Nerve. – 2020. – T. 62. – №. 3. – C. 300-308.
181. Brown C. et al. Mesenchymal stem cells: Cell therapy and regeneration potential //Journal of tissue engineering and regenerative medicine. – 2019. – T. 13. – №. 9. – C. 1738-1755.
182. Chen L. et al. Adipose-derived stem cells promote diabetic wound healing via the recruitment and differentiation of endothelial progenitor cells into endothelial cells mediated by the VEGF-PLC γ -ERK pathway //Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2020. – T. 692. – C. 108531.
183. Coddling J. L., Vosbikian M. M., Ilyas A. M. Acute compartment syndrome of the hand //Journal of Hand Surgery. – 2015. – T. 40. – №. 6. – C. 1213-1216.
184. Comella K., Silbert R., Parlo M. Effects of the intradiscal implantation of stromal vascular fraction plus platelet rich plasma in patients with degenerative disc disease //Journal of translational medicine. – 2017. – T. 15. – №. 1. – C. 1-8.
185. Cone J., Inaba K. Lower extremity compartment syndrome //Trauma Surgery & Acute Care Open. – 2017. – T. 2. – №. 1. – C. e000094.
186. Darinskas A. et al. RETRACTED ARTICLE: Stromal vascular fraction cells for the treatment of critical limb ischemia: a pilot study //Journal of translational medicine. – 2017. – T. 15. – C. 1-7.
187. Desai N., Rambhia P., Gishto A. Human embryonic stem cell cultivation: historical perspective and evolution of xeno-free culture systems //Reproductive Biology and Endocrinology. – 2015. – T. 13. – C. 1-15.
188. Dietrich L. et al. Infektionen der Hand //Primary and hospital care: allgemeine innere Medizin. – 2023. – T. 23. – №. 5. – C. 141-144.
189. DiPietro L. A. Angiogenesis and wound repair: when enough is enough //Journal of Leucocyte Biology. – 2016. – T. 100. – №. 5. – C. 979-984.
190. Doi K. et al. Stromal vascular fraction isolated from lipoaspirates using an automated processing system: bench and bed analysis //Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine. – 2013. – T. 7. – №. 11. – C. 864-870.

191. DiPietro L. A. Angiogenesis and scar formation in healing wounds //Current opinion in rheumatology. – 2013. – T. 25. – №. 1. – C. 87-91.
192. Eming S. A. et al. Regulation of angiogenesis: wound healing as a model //Progress in histochemistry and cytochemistry. – 2007. – T. 42. – №. 3. – C. 115-170.
193. Enechukwu A. O. M. et al. Infections of the hand and forearm //Der Unfallchirurg. – 2022. – T. 125. – №. 1. – C. 9-18.
194. Fan D. et al. Mesenchymal stem cells in the treatment of Cesarean section skin scars: study protocol for a randomized, controlled trial //Trials. – 2018. – T. 19. – C. 1-8
195. Ferrin I. et al. Isolation, culture, and expansion of mesenchymal stem cells //Stem Cell Banking: Concepts and Protocols. – 2017. – C. 177-190.
196. Fischer L. J. et al. Endothelial differentiation of adipose-derived stem cells: effects of endothelial cell growth supplement and shear force //Journal of Surgical Research. – 2009. – T. 152. – №. 1. – C. 157-166.
197. Fraser J. K. et al. The Celution® system: automated processing of adipose-derived regenerative cells in a functionally closed system //Advances in wound care. – 2014. – T. 3. – №. 1. – C. 38-45.
198. Frese L., Dijkman P. E., Hoerstrup S. P. Adipose tissue-derived stem cells in regenerative medicine //Transfusion Medicine and Hemotherapy. – 2016. – T. 43. – №. 4. – C. 268-274.
199. Fülber J. et al. Chondrogenic potential of mesenchymal stem cells from horses using a magnetic 3D cell culture system //World Journal of Stem Cells. – 2021. – T. 13. – №. 6. – C. 645.
200. Gacche R.N., Meshram R.J. Angiogenic factors as potential drug target: efficacy and limitations of anti-angiogenic therapy // Biochim. Biophys. Acta. – 2014. – V.1846, № 1. – P. 161-179
201. Galie P. A. et al. Fluid shear stress threshold regulates angiogenic sprouting //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2014. – T. 111. – №. 22. – C. 7968-7973.

202. Gentile P. et al. Concise review: adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical implications for tissue engineering therapies in regenerative surgery //Stem cells translational medicine. – 2012. – T. 1. – №. 3. – C. 230-236.
203. Gentile P. et al. Impact of the different preparation methods to obtain human adipose-derived stromal vascular fraction cells (AD-SVFs) and human adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs): enzymatic digestion versus mechanical centrifugation //International journal of molecular sciences. – 2019. – T. 20. – №. 21. – C. 5471.
204. Gentile P. et al. New strategies in plastic surgery: autologous adipose-derived mesenchymal stem cells contained in fat grafting improves symptomatic scars //FRONTIERS IN BIOSCIENCE. – 2021. – T. 26. – №. 8. – C. 255-257
205. Golchin A. et al. Embryonic stem cells in clinical trials: current overview of developments and challenges //Cell Biology and Translational Medicine, Volume 11: Stem Cell Therapy-Potential and Challenges. – 2020. – C. 19-37.
206. Gosain A. et al. Exogenous pro-angiogenic stimuli cannot prevent physiologic vessel regression //Journal of Surgical Research. – 2006. – T. 135. – №. 2. – C. 218-225
207. Goswami A. G. et al. An appraisal of vascular endothelial growth factor (VEGF): The dynamic molecule of wound healing and its current clinical applications //Growth Factors. – 2022. – T. 40. – №. 3-4. – C. 73-88.
208. Goyal K., Speeckaert A. L. Pyogenic Flexor Tenosynovitis: Evaluation //Hand Infections, An Issue of Hand Clinics. – 2020. – T. 36. – №. 3. – C. 323-329.
209. Grambow E. et al. Experimental models to study skin wound healing with a focus on angiogenesis //Medical Sciences. – 2021. – T. 9. – №. 3. – C. 55.
210. Guerra A., Belinha J., Jorge R. N. Modelling skin wound healing angiogenesis: A review //Journal of theoretical biology. – 2018. – T.459. – C. 1-17.
211. Gupta S. et al. Management of Chronic Wounds: Diagnosis, Preparation, Treatment, and Follow-up //Wounds: a compendium of clinical research and practice. – 2017. – T. 29. – №. 9. – C. S19-S36.

212. Hall M. P., Ward J. P., Cardone D. A. Platelet rich placebo? Evidence for platelet rich plasma in the treatment of tendinopathy and augmentation of tendon repair //Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases. – 2013. – T. 71. – №. 1. – C. 54.
213. Heal C. F. et al. Topical antibiotics for preventing surgical site infection in wounds healing by primary intention //Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2016. – №. 11.
214. Hermena S., Tiwari V. Pyogenic flexor tenosynovitis //StatPearls [Internet]. – StatPearls Publishing, 2024.
215. Hofmann A. T. et al. Ischemia Impaired Wound Healing Model in the Rat— Demonstrating Its Ability to Test Proangiogenic Factors //Biomedicines. – 2023. – T. 11. – №. 4. – C. 1043.
216. Hong S. J., Traktuev D. O., March K. L. Therapeutic potential of adipose-derived stem cells in vascular growth and tissue repair //Current opinion in organ transplantation. – 2010. – T. 15. – №. 1. – C. 86-91.
217. Honnegowda T. M. et al. Role of angiogenesis and angiogenic factors in acute and chronic wound healing //Plastic and Aesthetic Research. – 2015. – T. 2. – C. 243-249.
218. Hutchings G. et al. The proliferation and differentiation of adipose-derived stem cells in neovascularization and angiogenesis //International journal of molecular sciences. – 2020. – T. 21. – №. 11. – C. 3790.
219. Jardin E. et al. Usefulness of ultrasound for the diagnosis of pyogenic flexor tenosynovitis: a prospective single-center study of 57 cases //Hand surgery and rehabilitation. – 2018. – T. 37. – №. 2. – C. 95-98.
220. Johal K. S., Lees V. C., Reid A. J. Adipose-derived stem cells: selecting for translational success //Regenerative medicine. – 2015. – T. 10. – №. 1. – C. 79-96.
221. Johnson K. E., Wilgus T. A. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis in the regulation of cutaneous wound repair //Advances in wound care. – 2014. – T. 3. – №. 10. – C. 647-661.
222. Jones A. L., Rankin J. A., Then K. L. Drug overdose, loss of consciousness, and compartment syndrome: a life-threatening combination //Journal of emergency nursing. – 2020. – T. 46. – №. 3. – C. 294-301.

223. Juliar B. A. et al. Sprouting angiogenesis induces significant mechanical heterogeneities and ECM stiffening across length scales in fibrin hydrogels //Biomaterials. – 2018. – T. 162. – C. 99-108.
224. Karagiannis P. et al. Induced pluripotent stem cells and their use in human models of disease and development toxicology screening. *Physiol Rev.* 2019 Jan 1;99(1):79-114.
225. Kastanis G. et al. Acute compartment syndrome of the hand: a case report and overview //J Med Sci Clin Res. – 2022. – T. 10. – C. 38-44.
226. Khan K. M. et al. Histopathology of common tendinopathies: update and implications for clinical management //Sports medicine. – 1999. – T. 27. – №. 6. – C. 393-408.
227. Khan S. et al. Fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor play a critical role in endotheliogenesis from human adipose-derived stem cells //Journal of vascular surgery. – 2017. – T. 65. – №. 5. – C. 1483-1492.
228. Khazaei S. et al. Adipose tissue-derived stem cells: A comparative review on isolation, culture, and differentiation methods //Cell and tissue banking. – 2022. – T. 23. – №. 1. – C. 1-16.
229. Kingham E., Oreffo R. O. C. Embryonic and induced pluripotent stem cells: understanding, creating, and exploiting the nano-niche for regenerative medicine //ACS nano. – 2013. – T. 7. – №. 3. – C. 1867-1881.
230. Liao H. T., Chen C. T. Osteogenic potential: Comparison between bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells //World journal of stem cells. – 2014. – T. 6. – №. 3. – C. 288.
231. Liu G. et al. Advances in pluripotent stem cells: history, mechanisms, technologies, and applications //Stem cell reviews and reports. – 2020. – T. 16. – C. 3-32.
232. Malizos K. N. et al. Infections of deep hand and wrist compartments //Microorganisms. – 2020. – T. 8. – №. 6. – C. 838.
233. Maniar R. et al. Unusual presentation of acute compartment syndrome of the forearm and hand //BMJ Case Reports CP. – 2020. – T. 13. – №. 9.

234. Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting Technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020; 226: 119536. doi: 10.1016/j. biomaterials. 2019.119536.
235. Mehranfar S. et al. The use of stromal vascular fraction (SVF), platelet-rich plasma (PRP) and stem cells in the treatment of osteoarthritis: an overview of clinical trials // *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*. – 2019. – T. 47. – №. 1. – C. 882-890.
236. Mizuno H., Tobita M., Uysal A. C. Concise review: adipose-derived stem cells as a novel tool for future regenerative medicine // *Stem cells*. – 2012. – T. 30. – №. 5. – C. 804-810.
237. Mongiat M. et al. Extracellular matrix, a hard player in angiogenesis // *International journal of molecular sciences*. – 2016. – T. 17. – №. 11. – C. 1822.
238. Myers T.J., Granero-Molto F., Longobardi L. et al., Mesenchymal stem cells at the intersection of cell and gene therapy. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2010; 10(12): 1663-79
239. Nemir S., Hanson S. E., Chu C. K. Surgical decision making in autologous fat grafting: an evidence-based review of techniques to maximize fat survival // *Aesthetic surgery journal*. – 2021. – T. 41. – №. Supplement_1. – C. S3-S15.
240. Nilforoushzadeh M. A. et al. Dermal fibroblast cells: biology and function in skin regeneration // *Journal of Skin and Stem Cell*. – 2017. – T. 4. – №. 2.
241. Norman G. et al. Antibiotics and antiseptics for surgical wounds healing by secondary intention // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2016. – №. 3.
242. Oak N. R., Abrams R. A. Compartment syndrome of the hand // *Orthopedic Clinics*. – 2016. – T. 47. – №. 3. – C. 609-616.
243. Pastushenko I. et al. Mechanisms of tumour vascularization in cutaneous malignant melanoma: clinical implications // *British Journal of Dermatology*. – 2014. – T. 171. – №. 2. – C. 220–233.
244. Patel H., Sheikh M. S., Huang Y. ECRG2, a novel transcriptional target of p53, modulates cancer cell sensitivity to DNA damage // *Cell Death & Disease*. – 2020. – T. 11. – №. 7. – C. 543.
245. Qomi R. T., Sheykhhasan M. Adipose-derived stromal cell in regenerative

- medicine: a review //World journal of stem cells. – 2017. – T. 9. – №. 8. – C. 107.
246. Raposio E., Bertozzi N. Isolation of Ready-to-Use Adipose-Derived Stem Cell (ASC) Pellet for Clinical Applications and a Comparative Overview of Alternate Methods for ASC Isolation //Current Protocols in Stem Cell Biology. – 2017. – T. 41. – №. 1. – C. 1F. 17.1-1F. 17.12.
247. Robinson C. A., Kellar J. Z., Stehr R. C. An 84-Year-old man with acute atraumatic compartment syndrome of the upper extremity due to streptococcus pyogenes cellulitis //The American Journal of Case Reports. – 2021. – T. 22. – C. e929176-1.
248. Rojas-Neira J. A. Infections about the hand //Orthopaedics and Trauma: Current Concepts and Best Practices. – Cham: Springer International Publishing, 2024. – C. 1251-1267.
249. Rubinstein A. J., Ahmed I. H., Vosbikian M. M. Hand compartment syndrome //Hand clinics. – 2018. – T. 34. – №. 1. – C. 41-52.
250. Samadi P. et al. Therapeutic Applications of Mesenchymal Stem Cells: A Comprehensive Review //Current Stem Cell Research & Therapy. – 2021. – T. 16. – №. 3. – C. 323-353.
251. Schellenberg M. et al. Extremity compartment syndrome //Current Problems in Surgery. – 2018. – T. 55. – №. 7. – C. 256-273.
252. Schnall S. B. et al. Tissue pressures in pyogenic flexor tenosynovitis of the finger: compartment syndrome and its management //The Journal of Bone & Joint Surgery British Volume. – 1996. – T. 78. – №. 5. – C. 793-795.
253. Shafaei H., Kalarestaghi H. Adipose-derived stem cells: An appropriate selection for osteogenic differentiation //Journal of cellular physiology. – 2020. – T. 235. – №. 11. – C. 8371-8386.
254. Sharma R., Rao R. B., Chu J. Compartment syndrome of the hand from prolonged immobilization secondary to drug overdose //Journal of emergency medicine. – 2013. – T. 44. – №. 4. – C. 845-846.
255. Shaterian A. et al. The candidate tumor suppressor gene Ecr4 as a wound terminating factor in cutaneous injury //Archives of dermatological research. – 2013.

- T. 305. – C. 141-149.
256. Si Z. et al. Adipose-derived stem cells: Sources, potency, and implications for regenerative therapies //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2019. – T. 114. – C. 108765.
257. Song E. et al. Diagnosis and management of hand infections //The Journal of Hand Surgery. – 2024. – T. 49. – №. 12. – C. 1239-1249
258. Strassburg S. et al. Human adipose-derived stem cells enhance the angiogenic potential of endothelial progenitor cells, but not of human umbilical vein endothelial cells //Tissue engineering Part A. – 2013. – T. 19. – №. 1-2. – C. 166- 174.
259. SundarRaj S. et al. Development of a system and method for automated isolation of stromal vascular fraction from adipose tissue lipoaspirate //Stem Cells International. – 2015. – T. 2015.
260. Tan L. et al. Brachial muscle injury resulting in acute compartment syndrome of the upper arm: a case report and literature review //BMC Musculoskeletal Disorders. – 2021. – T. 22. – C. 1-4.
261. Trivisonno A. et al. Intraoperative strategies for minimal manipulation of autologous adipose tissue for cell-and tissue-based therapies: concise review //Stem cells translational medicine. – 2019. – T. 8. – №. 12. – C. 1265-1271.
262. Tillinghast C. M., Gary J. L. Compartment syndrome of the lower extremity //Compartment syndrome: a guide to diagnosis and management. – 2019. – C. 67-81.
263. Ullah I., Subbarao R. B., Rho G. J. Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective //Bioscience reports. – 2015. – T. 35. – №. 2. – C. e00191.
264. Van Dongen J. A., Harmsen M. C., Stevens H. P. Isolation of stromal vascular fraction by fractionation of adipose tissue //Skin Tissue Engineering: Methods and Protocols. – 2019. – C. 91-103.
265. Vapniarsky N. et al. Concise review: human dermis as an autologous source of stem cells for tissue engineering and regenerative medicine //Stem cells translational medicine. – 2015. – T. 4. – №. 10. – C. 1187-1198.
266. Vladimirova E. S. et al. The specifics of mine and explosive damage, the provision of specialized assistance and rehabilitation of victims who were in the zone of

- terrorist operations //Bulletin of the Medical Institute" REAVIZ"(REHABILITATION, DOCTOR AND HEALTH). – 2024. – T. 14. – №. 6. – C. 47–58.
267. Von Keudell A. G. et al. Diagnosis and treatment of acute extremity compartment syndrome //The Lancet. – 2015. – T. 386. – №. 10000. – C. 1299-1310.
268. Vučetić Č., Dimitrijević I., Vučković S. Infections of the extremities as a complication of the intravenous use of psychoactive substances //Galenika Medical Journal. – 2023. – T. 2. – №. 7. – C. 19-25.
269. Wang P. et al. The role of Sprouty1 in the proliferation, differentiation and apoptosis of epidermal keratinocytes //Cell Proliferation. – 2018. – T. 51. – №. 5. – C. e12477.
270. Wankhade U. D. et al. Advances in adipose-derived stem cells isolation, characterization, and application in regenerative tissue engineering //Stem cells international. – 2016. – T. 2016.
271. Wietecha M. S. et al. Sprouty2 downregulates angiogenesis during mouse skin wound healing //American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2011. – T. 300. – №. 2. – C. H459-H467.
272. Wietecha M. S., DiPietro L. A. Therapeutic approaches to the regulation of wound angiogenesis //Advances in wound care. – 2013. – T. 2. – №. 3. – C. 81-86
273. Wilgus T. A. Vascular endothelial growth factor and cutaneous scarring //Advances in Wound Care. – 2019. – T. 8. – №. 12. – C. 671-678.
274. Williams D. W. et al. Surgical demographics of acute hand compartment syndrome //HAND. – 2023. – T. 18. – №. 7. – C. 1177-1182.
275. Withycombe C., Purdy K. J., Maddocks S. E. Micro-management: curbing chronic wound infection //Molecular Oral Microbiology. – 2017. – T. 32. – №. 4. – C. 263-274.
276. Woo S. L. Y. et al. Tissue engineering of ligament and tendon healing //Clinical Orthopaedics and Related Research (1976-2007). – 1999. – T. 367. – C. S312-S323.
277. Wrafter P. F., Kelly O., O’Shaughnessy M. Acute bilateral compartment syndrome of the forearms //The Journal of Hand Surgery. – 2020. – T. 45. – №. 3. – C. 259. e1-

259. e4.

278. Yang R. et al. Epidermal stem cells in wound healing and regeneration //Stem cells international. – 2020. – T. 2020.

279. Yates-Binder C. C. et al. An IP-10 (CXCL10)-derived peptide inhibits angiogenesis //PloS one. – 2012. – T. 7. – №. 7. – C. 40812.

280. Zhu M. et al. Manual isolation of adipose-derived stem cells from human lipoaspirates //JoVE (Journal of Visualized Experiments). – 2013. – №. 79. – C. e50585.