

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»



На правах рукописи

ЗАХАРОВ Артем Дмитриевич

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПРИМЕНЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КОЛЛАГЕНОВОГО МАТРИКСА
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ РАН У ПАЦИЕНТОВ
С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

Специальность 3.1.9. Хирургия (медицинские науки)

Д и с с е р т а ц и я
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Никольский Валерий Исаакович

Пенза – 2024

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1 Актуальные вопросы лечения ран у пациентов с синдромом диабетической стопы (обзор литературы).....	13
1.1. Внеклеточный матрикс в регенеративной медицине.....	13
1.1.1. Влияние антиоксидантной терапии на репаративные процессы в ранах	16
1.2. Варианты использования внеклеточного коллагенового матрикса в лечении хронических ран	19
1.3. Особенности комплексной терапии гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы.....	24
1.4. Исследование микроциркуляции тканей стопы у пациентов с сахарным диабетом.....	28
1.5. Современные подходы к местному лечению длительно незаживающих ран у пациентов с синдромом диабетической стопы	31
Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. Дизайн исследования	36
2.2. Экспериментальное исследование.....	37
2.2.1. Выбор формы внеклеточного коллагенового матрикса.....	38
2.2.2. Моделирование раневого дефекта и имплантация внеклеточного коллагенового матрикса	40
2.3. Оценка оксидативного стресса.....	44
2.3.1. Определение уровня диеновых и триеновых конъюгатов.....	44
2.3.2. Определение уровня каталазы.....	45
2.3.3. Определение уровня церулоплазмينا	46
2.3.4. Определение уровня супероксиддисмутазы	46
2.4. Клиническое исследование	47
2.4.1. Расчет объема выборки и анализ мощности исследования.....	47
2.4.2. Характеристика исследуемых групп больных	48
2.4.3. Оценка микроциркуляции тканей нижних конечностей	55
2.5. Методы статистической обработки полученных данных	56

Глава 3 ЛЕЧЕНИЕ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ	59
3.1. Консервативная терапия гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы	59
3.2. Хирургическое лечение гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы	61
3.3. Техника применения разработанного способа лечения хронических ран с использованием внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом.....	63
Глава 4 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	66
4.1. Анализ результатов экспериментального исследования.....	66
4.2. Анализ результатов клинического исследования.....	72
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	88
ВЫВОДЫ	94
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99
Приложение А. Акты внедрения результатов диссертационной работы ...	122
Приложение Б. Патент на изобретение	125

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Проблема лечения гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы (ДС) до сих пор остается актуальной в гнойной хирургии. Это обусловлено широкой распространенностью сахарного диабета (СД) [Курлаев П. П. и соавт., 2019]. В Российской Федерации заболеваемость составляет более 7 % населения [Дедов И. И. и соавт., 2023]. У 30–80 % пациентов впоследствии развиваются гнойно-некротические процессы нижних конечностей [Галстян Г. Р., Дедов И. И., 2009], нередко являющиеся причиной ампутаций на уровне бедра или голени, число которых порой превышает 30 % [Бенсман В. М., 2015; Wukich D. K. et al., 2022; Armstrong D. G. et al., 2023; OuYang H. et al., 2023], что, в свою очередь, обуславливает высокую послеоперационную летальность, составляющую, по разным источникам, от 6 до 50 % [Дедов И. И., 2010; Федоров В. Д., Светухин А. М., 2007].

Существующая на сегодняшний день многокомпонентная терапия синдрома ДС охватывает множество патогенетических аспектов возникновения гнойно-некротических осложнений нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом и включает в себя адекватную хирургическую обработку гнойно-некротического очага, реваскуляризацию пораженной конечности и комплексную медикаментозную терапию [Дедов И. И. и соавт., 2023]. Однако биодоступность, а значит, и эффективность системной медикаментозной терапии может быть ограничена. Основопологающими компонентами патогенеза синдрома ДС являются нейропатия и ангиопатия, причем страдают как магистральные сосуды за счет атеросклеротического поражения, так и микроциркуляторное русло вследствие гликирования белков сосудистой стенки [Горюнов С. В. и соавт., 2021]. В таких условиях доставка биологически активных веществ посредством системного кровотока, как правило, затруднена. При этом выполнить реваскуляризацию пораженной конечности не всегда представляется возможным, поскольку данный вид вмешательства имеет ряд абсолютных противопоказаний, а в определенных случаях отсутствуют возможности для его выполнения. Кроме

того, даже успешно выполненное реконструктивное вмешательство не гарантирует отсутствие рецидивов гнойно-некротического процесса, в ряде случаев приходится выполнять повторную реваскуляризацию уже через 6 месяцев после первой операции [Груздев Н. Н. и соавт., 2023].

По данным различной литературы, одним из факторов, отрицательно влияющих на процессы репарации, является наличие высокого и неконтролируемого уровня оксидативного стресса. Свободные пероксильные радикалы приводят к повреждению митохондрий, липидов мембран и других биологических структур в клетках, что способствует развитию воспалительных реакций, нейродегенеративных изменений, онкопатологических процессов, активации апоптоза [Алиева К. А. и соавт., 2023]. Наличие большого количества свободных радикалов с дальнейшим повреждением клеточных структур в зоне раневого дефекта тормозит переход из фазы воспаления в фазу пролиферации [Луцевич О. Э. и соавт., 2011; Олифирова О. С., Козка А. А., 2015; Власов А. П. и соавт., 2017; Sies, 2015]. Поэтому включение антиоксидантов в многокомпонентную терапию синдрома ДС является необходимым. Помимо улучшения репаративных свойств, антиоксиданты оказывают нейропротекторное действие, что обуславливает их применение у пациентов с нейропатической и нейро-ишемической формами синдрома ДС [Новиков В. И., Новиков К. Ю., 2014; Стяжкина С. Н. и соавт., 2021]. Однако антиоксидантная терапия становится наиболее эффективной только при достаточной высокой концентрации препарата в очаге, создать которую посредством системной терапии не представляется возможным [Родин А. Н. и соавт., 2023].

Таким образом, поиск средств местного лечения ран у пациентов с синдромом диабетической стопы не теряет актуальности и в настоящее время.

Степень разработанности проблемы. С целью улучшения результатов лечения хронических ран, в том числе послеоперационных, у пациентов с синдромом диабетической стопы большое количество исследователей разрабатывали новые методы местной терапии [Мулдашев Э. Р. и соавт., 2002; Майбородин И. В. и соавт., 2013; Олифирова О. С. и соавт., 2014; Егорихина М. Н.

и соавт., 2017; Кривошеков Е. П. и соавт., 2021; Marston W. A., 2004; Badylak S. F. et al., 2009; Chaugule S. R. et al., 2017].

Разработка способов местного лечения хронических ран у пациентов с синдромом диабетической стопы является актуальной на сегодняшний день.

Одним из перспективных направлений в настоящее время является местное применение озонотерапии. Местное и эндолимфатическое введение растворов озона благоприятно влияет на течение раневого процесса, за счет коррекции бактериальной обсемененности раневого очага, а также снижение риска генерализации инфекции [Жолдошбеков Е. Ж. и соавт., 2016; Золотухин О. В. и соавт., 2023; Аралова М. В., 2023]. Однако данный способ неприменим в условиях, когда невозможно осуществить реваскуляризацию пораженной конечности. Кроме того, использование озона может усиливать оксидативный стресс в тканях области раневого дефекта.

Существует способ активизации репаративных процессов в ранах у пациентов с нейро-ишемической формой синдрома ДС, заключающийся в трепанации костей голени и введением в перфоративные отверстия аутоплазменного тромбоцитарного концентрата [Михайлов А. Ю. и соавт., 2021]. Данный способ, по мнению авторов, позволяет минимизировать выраженность ишемии конечности и способствует более быстрому заживлению хронических язв у пациентов с синдромом ДС. Однако данный способ является достаточно травматичным и противопоказан пациентам с остеопорозом, а также острым и хроническим остеомиелитом костей нижних конечностей.

В отечественной регенеративной медицине широкой популярностью пользуется коллагеновый комплекс «Коллост». Данный препарат способствует активации фибриногенеза, миграции фибробластов в область раневого дефекта и пролиферации эпителиальных клеток за счет активации гранулоцитов, макрофагов и фибробластов. Высокая концентрация коллагена позволяет сформировать собственный внеклеточный коллагеновый матрикс, являющийся своеобразной площадкой для эпителиальных клеток и факторов роста [Дедов И. И. и соавт., 2013; Ступин В. А. и соавт., 2017; Габитов Р. Б., 2019]. Однако данный коллагеновый

комплекс не способен транспортировать биологически активные вещества непосредственно в раневой очаг, минуя системный кровоток.

В настоящее время широко используют различные эквиваленты кожи – биоинженерные конструкции – заменители кожи, состоящие из клеточного компонента и подложки (матрицы, скаффолда), являющиеся аналогом внеклеточного матрикса [Мелешина А. В. и соавт., 2017].

Известен в литературе матрикс на основе подслизистой тонкой кишки свиньи, широко применяемый при ожогах, хронических язвах, а также в реконструктивной оториноларингологии, нейрохирургии и стоматологии [Долгалев А. А., Айрапетян А. А., 2018]. Одним из преимуществ такого матрикса является способность переносить импрегнируемые в матрикс лекарственные средства и биологически активные вещества. Имплантация матрикса осуществляется в виде «листовой формы» – лиофилизированной мембраны или коллагенового геля из матрикса – децеллюляризованный внеклеточный коллагеновый матрикс [Долгалев А. А. и соавт., 2019; Исаева Е. В. и соавт., 2022]. В настоящее время нет единой позиции об оптимальной форме внеклеточного коллагенового матрикса для имплантации.

Таким образом, на сегодняшний день нет единого мнения о выборе материала для имплантации, формы трансплантата, его способности транспортировки в ткани биологически активных веществ и лекарственных средств, а также контроля их концентрации.

Цель исследования: разработать и внедрить в клиническую практику способ активизации репаративных процессов для сокращения сроков заживления ран у пациентов, перенесших оперативные вмешательства по поводу гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы.

Задачи исследования:

1. Изучить в эксперименте на животных влияние внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом на репаративные процессы в ранах посредством коррекции окислительного стресса.

2. В эксперименте на животных сравнить эффективность воздействия антиоксидантов, импрегнированных в пластинчатый скаффолд и во внеклеточный матрикс в форме геля.

3. Разработать способ активизации репаративных процессов в ранах у пациентов, перенесших оперативные вмешательства по поводу гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы.

4. Провести оценку микроциркуляции тканей нижних конечностей посредством лазерной доплеровской флоуметрии у пациентов с хроническими раневыми дефектами на фоне синдрома диабетической стопы в зависимости от выбранного способа лечения.

5. Провести сравнительный анализ клинических результатов лечения ран у пациентов с синдромом диабетической стопы с использованием внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом и традиционной терапии.

Научная новизна. Впервые в эксперименте на животных проведена оценка влияния внеклеточного коллагенового матрикса на репаративные процессы в ранах за счет коррекции оксидативного стресса.

На основании сравнительного анализа результатов применения различных форм внеклеточного коллагенового матрикса в эксперименте показана более высокая эффективность коллагенового геля из матрикса, импрегнированного антиоксидантным препаратом. Доказано, что имплантация коллагенового геля из матрикса позволяет в более короткие сроки достичь баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты и нивелировать явления оксидативного стресса, что в свою очередь способствует ускорению репаративных процессов в ранах.

Разработан новый способ активизации репаративных процессов в ранах у пациентов, страдающих синдромом диабетической стопы (патент РФ на изобретение № 2793889 от 07.04.2023), позволяющий ускорить процессы заживления ран за счет коррекции оксидативного стресса, путем непосредственной доставки антиоксидантного препарата в раневую очаг, минуя системный кровоток.

Впервые проведен анализ результатов лечения пациентов после применения коллагенового геля из матрикса, импрегнированного антиоксидантом с оценкой течения раневого процесса, а также функционирования микроциркуляторного русла в зоне раневого дефекта.

Теоретическая и практическая значимость работы. Предложенный способ активизации репаративных процессов позволил уменьшить сроки заживления послеоперационных ран у пациентов с синдромом диабетической стопы. Кроме того, использование внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом, способствует улучшению микроциркуляции тканей за счет купирования явлений оксидативного стресса.

Результаты исследования нашли практическое применение в работе отделения гнойной хирургии ГБУЗ «Клиническая больница № 6 им. Г. А. Захарьина», г. Пенза. Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедре «Хирургия» Медицинского института Пензенского государственного университета, в работе ООО «Центр доклинических исследований», г. Пенза.

Положения, выносимые на защиту:

1. Внеклеточный коллагеновый матрикс, импрегнированный антиоксидантом, способствует активизации репаративных процессов за счет нивелирования явлений оксидативного стресса.

2. Использование коллагенового геля из матрикса, импрегнированного антиоксидантом, позволяет эффективнее активировать репаративные процессы в ранах, по сравнению с применением листовой формы матрикса, импрегнированного антиоксидантом.

3. Предложенный способ активизации репаративных процессов в ранах у пациентов с синдромом диабетической стопы с использованием коллагенового геля из матрикса, импрегнированного антиоксидантом, способствует улучшению функционирования микроциркуляторного русла в зоне раневого дефекта и перифокальной зоне, что, в свою очередь, позволяет сократить сроки заживления ран.

Степень достоверности полученных результатов. Достоверность научных выводов основывалась на достаточном количестве пациентов, принявших участие в исследовании, современной статистической обработке данных с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. Оценка результатов клинического исследования базировалась на принципах доказательной медицины.

Для статистической обработки данных использовались программы Microsoft Office профессиональный плюс (2007), статистические пакеты STATISTICA 10, JASP 0.18.3. Метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с применением критерия Краскела–Уоллиса использовался при изучении динамики значений параметров при большом количестве выборок (более двух). Значения указывались с 95% доверительным интервалом (ДИ). При сопоставлении непрерывных данных в несвязанных группах применяли критерий Стьюдента (для нормального распределения) и Манна-Уитни (для данных, распределенных не по нормальному закону).

Для анализа динамики площади раневого дефекта в сравниваемых группах использовали бинарную логистическую регрессионную модель отношения рисков с вычислением 95% доверительных интервалов и статистической значимости.

При использовании вышеуказанных статистических методов анализа результатов исследования в качестве порога статистической значимости принималось значение $p < 0,05$.

Внедрение в практику. Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре «Хирургия» Медицинского института Пензенского государственного университета, в работу ООО «Центр доклинических исследований», г. Пенза, в лечебный процесс отделения гнойной хирургии ГБУЗ «Клиническая больница № 6 им. Г. А. Захарьина», г. Пенза.

Личный вклад автора. Личный вклад автора заключается в определении цели и задач научного исследования, осуществлении подробного анализа современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, разработке плана исследования.

Диссертант принимал непосредственное участие во всех этапах исследования: проведении эксперимента на животных и наблюдении за ними. Выполнял забор биологического материала для последующего анализа. Принимал участие в биохимическом исследовании полученных образцов. Автор участвовал в подготовке технических условий (ТУ) для изготовления внеклеточного коллагенового матрикса, необходимых предприятию-изготовителю, а также в разработке и внедрении способа активизации репаративных процессов в ранах у пациентов с синдромом диабетической стопы. Самостоятельно оперировал и ассистировал при проведении большинства оперативных вмешательств, осуществлял имплантацию внеклеточного матрикса, проводил оценку микроциркуляции посредством лазерной доплеровской флоуметрии, вел пациентов в послеоперационном периоде. Провел подробный анализ полученных результатов с последующей их статистической обработкой, сформулировал обоснованные выводы и разработал практические рекомендации.

Апробация работы. Результаты работы доложены на: XIII Международной научно-практической конференции «Научные исследования и инновации» (Саратов, 2021); XIII Научно-практической конференции молодых ученых-медиков с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное» (Москва, 2022); Третьем съезде хирургов Приволжского федерального округа (Нижний Новгород, 2022); на заседании Пензенского регионального отделения общероссийской общественной организации «Российское общество хирургов» (Пенза, 2022); LXXXIV научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины» (Санкт-Петербург, 2023); III межрегиональной научно-практической конференции, посвященная памяти С.В. Каткова: Современные лечебно-диагностические технологии в хирургии и интенсивной терапии (Саранск, 2023).

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ университета. Работа выполнена в рамках комплексной научной программы

кафедры «Хирургия» Пензенского государственного университета в соответствии с тематическим планом кафедральных (инициативных) НИР на 2021–2025 гг., код ГРНТИ 76.29.39. Код международной классификации отраслей наук 3.02. УА. Направление из стратегии НТР РФ «в», по шифру научной специальности 3.1.9. Код направления подготовки/специальности 14.01.17.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.9 Хирургия: п.1 – изучение причин, механизмов развития и распространенности хирургических заболеваний, п.4 – экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, из них 3 в изданиях, рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук, получен патент РФ на изобретение № 2793889 от 07.04.2023.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 125 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов исследований с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, списка литературы, приложений. Список литературы включает себя 171 источник, в том числе 92 отечественных и 79 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 14 таблицами и 23 рисунками.

ГЛАВА 1

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЛЕЧЕНИЯ РАН У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Несмотря на значительные успехи в изучении этиологии и патогенеза синдрома диабетической стопы (ДС), совершенствование методов диагностики и лечения, статистика частоты и исхода гнойно-некротических поражений нижних конечностей по-прежнему остается неутешительной [Чекмарева И. А. и соавт., 2015; Белик Б. М. и соавт., 2020; Garcia-Diez, A. I. et al., 2023]. Возникающие сложные патофизиологические процессы в раневой среде на фоне синдрома ДС затрудняют поиск эффективных методов лечения, стандартные же методы терапии зачастую имеют ограниченную эффективность [Bardill, J. R. et al., 2022].

1.1. ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ МАТРИКС В РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ

В регенеративной медицине для восстановления целостности и функциональной активности тканей широкое применение находят тканеинженерные конструкции, которые состоят из клеток, формирующих внеклеточный матрикс, являющейся биodeградируемой платформой для трансплантации клеток и биоактивных молекул (цитокины, факторы роста и т.д.) [Кручинина А. Д., Венедиктов А. А., 2017]. Наибольшее распространение в качестве биосовместимых матриц получили материалы на основе природных полисахаридов, белковых соединений (желатиновые, коллагеновые и другие гели), образующие трехмерную 3D-структуру и обеспечивающие тканевую целостность [Богдан В. Г. и соавт., 2013]. Известны внеклеточные матриксы на основе титана. Титановые скаффолды часто применяют для разработки и создания различных вариантов костных конструкций, которые можно использовать как в моделировании некоторых биологических процессов, характерных для этого типа

тканей, так и в восстановительной медицине с целью реконструкции костных дефектов [Кокорев О. В. и соавт., 2014; Кит О. И. и соавт., 2022].

М. Н. Егорихина и соавторы (2018) разработали матрикс на основе криопреципитата плазмы крови, полученной от здоровых доноров, коллагена I типа, тромбина, хлорид кальция, в качестве клеточного материала – дермальных фибробластов человека и мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека.

Э. Р. Мулдашев и соавторы (2002) в ходе исследований разработали биоматериал, состоящий из консервированной донорской человеческой соединительной ткани с элиминированными клеточными элементами. Данный материал по фиброструктуре на 70 % соответствует замещаемым тканям, а в волокнистых компонентах донорской соединительной ткани на 80–90 % разблокированы химические связи протеогликанов и гликопротеинов в коллагеновых волокнах, и частично элиминированы из пучков волокон гликозамингликаны до их остаточного содержания не более 50 %.

Биологические каркасные материалы, полученные из внеклеточного матрикса (ВКМ) интактных тканей млекопитающих, успешно используют в различных областях тканевой инженерии и регенеративной медицины, как в доклинических исследованиях, так и на стадии клинических испытаний [Badylak S. F. et al., 2009].

В последнее время в регенеративной медицине широко применяют матрикс на основе подслизистой тонкой кишки свиньи, представляющий собой слой рыхлой соединительной ткани, располагающийся между мышечной и слизистой оболочками [Гайвороновский И. В., 2013; Митякина О. С. и соавт., 2016]. Преимуществами биоматериала на основе подслизистой тонкой кишки свиньи являются: биodeградация, гемостатическая способность, высокая биоинтеграция, низкая скорость кальцификации по сравнению с синтетическими материалами [Lam M. T., Wu J. C., 2012].

Hafez A.T. et al. (2004) разработали четырехслойный вариант ВКМ из подслизистой свиной тонкой кишки. В эксперименте авторы отмечали большую интенсивность репаративных процессов, в сравнении с использованием однослойного ВКМ.

Имеются данные о возможности применения матрикса из коралловых красных водорослей, морских губок, морских ежей, моллюсков [Ehrlich H. et al., 2010; Rahman, M. A., 2019]. Авторы предлагают использование внеклеточного коллагенового матрикса, полученного из морских организмов для регенерации, в первую очередь, костной ткани, однако допускают применение и на мягких тканях [Chaugule S. R. et al., 2017]. Коллаген, полученный из морских организмов, может поддерживать стабильность костного трансплантата и может быть отличным переносчиком факторов роста. J. Chen et al. (2019) опубликовали исследование репаративных процессов ран у крыс с использованием коллагеновых губок из кожи тилапии в сравнении с матриксом из подслизистой оболочки тонкой кишки крупного рогатого скота. Авторы пришли к выводу, что использование матрикса на основе коллагена рыб может иметь не меньшую эффективность в заживлении ран, в том числе, хронических. Высокая способность к стимуляции репаративных процессов обусловлена биомиметической структурой и выраженной пористостью коллагеновых нановолокон в данном матриксе.

Внеклеточный коллагеновый матрикс нашел свое применение в ортопедической стоматологии [Долгалев А. А., Айрапетян А. А., 2018]. Широкое внедрение в хирургическую стоматологию материалов для восстановления объема мягких тканей прежде всего вызвано их эстетической востребованностью. В своем исследовании авторы использовали коллагеновый матрикс производства ООО «Кардиоплант» в сравнении с коллагеновой мембраной «Mucograft» и кровяным сгустком между надкостницей и мягкой тканью для оценки репаративных процессов при дефектах нижней челюсти.

Существуют исследования применения ВКМ для замещения костно-хрящевых дефектов крупных суставов. Г. А. Айрапетов (2019) в исследовании на

лабораторных животных применял ВКМ из подслизистой оболочки тонкой кишки свиньи в качестве пластического материала гиалинового хряща крупных суставов. Под матрикс вводили 3 мл плазмы, обогащенной тромбоцитами со взвесью измельченного гиалинового аутохряща из ненагружаемой поверхности сустава. Фрагменты хряща измельчали до 1 мм и вводили под мембрану из расчета 5 штук на 1 см². В процессе динамического наблюдения отмечали закрытие дефекта до 4/5, при морфологическом исследовании автору удалось проследить архитектуру гиалиновоподобной хрящевой ткани, что, может свидетельствовать об эффективности применения ВКМ.

Таким образом, внеклеточный коллагеновый матрикс в настоящее время имеет широкое применение в регенеративной медицине. Наиболее часто используют матрикс из подслизистой тонкой кишки свиней и крупного рогатого скота, кроме того, существуют исследования по поиску альтернативного источника получения коллагенового матрикса. Однако, вопрос о выборе оптимального ВКМ для лечения обширных раневых дефектов остается не до конца изученным.

1.1.1. Влияние антиоксидантной терапии на репаративные процессы в ранах

Оксидативный стресс является одним из основных механизмов, участвующих в формировании хронических ран диабетической стопы. Концепция окислительного (оксидативного) стресса была введена Н. Sies в 1985 г., который охарактеризовал его как сдвиг в балансе прооксидантов и антиоксидантов в пользу первых. Чрезмерный и неконтролируемый оксидативный стресс приводит к хроническим незаживающим ранам [Sies, 2015].

В настоящее время широко изучена роль свободнорадикальных реакций (СРР) перекисного окисления липидов (ПОЛ) в течении раневого процесса. В условиях снижения активности системы антиоксидантной защиты гидроксильные радикалы ОН- запускают вторичные СРР реакции перекисидации липидов мембран

клеток не только в зоне раневого дефекта, но и в клетках перифокальной зоны [Луцевич О. Э. и соавт., 2011; Олифирова О. С., Козка А. А., 2015]. В дальнейшем происходит ингибирование механизмов, ответственных за последовательное наступление стадий грануляции и эпителизации, прежде всего, за счет усиления апоптоза клеток с продолжающимся окислительным стрессом, модификацией белка и повреждением ДНК, таким образом увеличиваются сроки заживления раны [Шабров А. В., 2019; Schafer M, Werner S., 2008; Zhang W. et al., 2021].

А. П. Власов и соавторы (2017) представили результаты исследования активности репаративных процессов в лапаротомной ране экспериментальных животных в отягощенных условиях. В процессе исследования авторы отмечали снижение окислительно-восстановительного потенциала в зоне операционной раны, нарушение микроциркуляции тканей области соустья и замедление процессов репарации. Одной из причин снижения темпа процессов заживления, являлась избыточная активность перекисного окисления липидов и фосфолипаз в условиях воспаления. Через сутки после оперативного вмешательства авторы наблюдали повышение уровня фосфолипазы A_2 на 242,9 %.

Поскольку оксидативный стресс играет важную роль в нарушении репаративных процессов в ранах у пациентов с синдромом ДС, использование антиоксидантов для улучшения заживления путем модуляции воспаления и антиоксидантной системы без влияния на гликемию видится многообещающим.

Различные авторы высказывали предположение, что повреждающие эффекты гипергликемии активируются перепроизводством митохондриальных активных форм кислорода, однако некоторые авторы опровергают эту точку зрения [Демьяненко И. А. и соавт., 2017; Brownlee M., 2005; Giacco F., Brownlee M., 2010; Sharma K., 2015].

А. С. Maritim, et al. (2003) отмечают, что использование витаминов-антиоксидантов, таких как витамины Е и С, способствует заживлению ран на фоне

синдрома ДС. Витамин Е (α -токоферол) взаимодействует непосредственно с пероксильными радикалами, супероксидом и синглетным кислородом для защиты клеточных мембран от перекисного окисления липидов, в то время как витамин С перерабатывает радикал токоферола, усиливает его антиоксидантную активность и вырабатывает дегидроаскорбиновую кислоту, способствующую снижению оксидативного стресса.

А. F. Pessoa et al. (2016) в эксперименте установил, что пероральное применение витаминов Е и С эффективно восстанавливало активность антиоксидантных ферментов, снижая уровни активных форм кислорода и ускоряя заживление ран у мышей с диабетом. Аналогично, фолиевая кислота, витамин С прямым антиоксидантным действием, улучшала отложение коллагена и способствовала заживлению ран.

И. А. Демьяненко и соавторы (2017) в своей работе описывают результаты введения лабораторным животным с генетически обусловленным сахарным диабетом митохондриально-ориентированного антиоксиданта 10-(6'-пластохинонил) децилтрифенилфосфоний – SkQ1. Пероральное введение 250 нмоль/кг SkQ1 приводило к значительному уменьшению площади раны у мышей на 6-й и 7-й дни. Кроме того, вновь образованная соединительная ткань мышей, которые получали антиоксидант, состояла из более зрелых пучков коллагеновых волокон по сравнению с грануляционной тканью контрольных животных. Помимо этого, на фоне антиоксидантной терапии увеличена плотность сосудистой сети в грануляционной ткани, что, по мнению авторов, способствует более активному заживлению раны.

О. С. Олифирова и А. А. Козка (2015) сообщали об успешном применении дигидрокверцетина в лечении гнойно-некротических ран. В группе пациентов, которые получали антиоксиданты, репаративные процессы в ранах протекали более интенсивно, чем в группе сравнения. За счет более активного течения раневого процесса сроки предоперационной подготовки для выполнения аутодермопластики, были меньше ($8,4 \pm 0,7$ дня), чем у пациентов, получавших

стандартную терапию ($15,3 \pm 1,6$ дня). На 21-й день лечения у больных основной группы отмечали значимое снижение маркеров воспаления по данным лабораторных исследований, а также возрастания фибробластов и клеток эпителия. Показатели прооксидантов в основной группе также уменьшились, в то же время, уровень антиоксидантов был значительно выше, чем в группе сравнения.

Таким образом, существует необходимость применения антиоксидантов в лечении гнойно-некротических ран, в том числе, возникших на фоне синдрома диабетической стопы. Имеющиеся данные свидетельствуют об уменьшении сроков заживления ран на фоне антиоксидантной терапии, активной стимуляции процессов грануляции и эпителизации, а также стихании перифокального воспаления. Однако в условиях диабетической ангиопатии использование системной антиоксидантной терапии может быть ограничено в виду неадекватной доставки лекарственных средств в раневой очаг. Существует необходимость поиска альтернативного способа доставки антиоксидантных препаратов в зону раневого дефекта, минуя системный кровоток.

1.2. ВАРИАНТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КОЛЛАГЕНОВОГО МАТРИКСА В ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ РАН

Скаффолды из ВКМ сформированы структурными и функциональными молекулами, которые секретируются клетками ткани и органа, из которых они состоят. Учитывая данный факт, состав и распределение компонентов ВКМ могут быть разными в зависимости от источника ткани [Unger R. E. et al., 2004; Hodde J. et al., 2007].

В настоящее время разработаны матриксы из микробиологических материалов в различных фазовых состояниях (гели, порошки, растворы), на их

основе получают двух- и трехмерные скаффолды в виде ультратонких пленок, мембран, губок, пористых конструкций [Митрошин А. Н. и соавт., 2019].

Для эффективного восстановления поврежденных тканей внеклеточный матрикс, применяемый для активизации репаративных процессов в обширных раневых дефектах, должен обладать определенными характеристиками. Некоторые авторы отдают предпочтение гелеобразной форме матрикса, преимущественно, за счет возможности свободной инкорпорации клеток по всему объему материала, создающую протекцию и фиксацию трансплантируемых клеток при коррекции глубоких повреждений соединительной ткани. Материал должен иметь способность повышать адгезию клеток к используемым синтетическим опорным структурам, применяемым в клинической практике, сохранять высокую жизнеспособность клеточного материала, создавать условия для возможности в полной мере реализовать пролиферативный и стимуляционный потенциал трансплантируемых клеток. Кроме того, важными свойствами являются ареактогенность матрикса и способность подвергаться резорбции в организме с образованием нетоксичных продуктов [Еремеев А. В. и соавт., 2009; Панарин Е. В. и соавт., 2009; Богдан В. Г. и соавт., 2013].

Еще одним немаловажным фактором эффективности ВКМ является способность транспортировки биологически активных веществ и лекарственных средств непосредственно в очаг поражения. Включение этих веществ в состав матрикса позволяет повысить уровень их биодоступности, создать условия для успешной миграции, пролиферации и дифференцировки клеток в зоне раневого дефекта, обеспечить локальное снижение воспалительного ответа, способствует развитию местного иммунитета, и, как следствие, может оказывать благоприятное влияние на репаративные процессы в ране [Егорихина М. Н. и соавт., 2020; Carmagnola I. et al., 2018].

При производстве матрикса на основе биологических материалов зачастую достаточно легко контролировать его физико-химические свойства. Немаловажным положительным моментом в применении матрикса является

снижение риска появления локального воспалительного ответа. Обычно при использовании синтетических материалов предпочтение отдают биоразлагаемым композитам, так как они полностью лизируются, снижая проявления хронического воспаления в организме реципиента. Таким образом, описанные материалы служат лишь временным вспомогательным субстратом для собственной регенерации тканей [Егорихина М. Н. и соавт., 2018; Иванов А. М. и соавт., 2020; Никольский В. И. и соавт., 2022; Seeger M. A., Paller A. S., 2015].

Широко известны на сегодняшний день методы получения ВКМ в форме ультратонких пленок, полученных на основе фиброина шелка. Фиброиновые пленки получают из органических и водных растворов фиброина [Архипова А. Ю., 2019; Minoura N. et al., 1990]. Ультратонкие фиброиновые пленки также формируют из водных растворов, при этом используют технику послойного синтеза [Wang X. et al., 2005].

Шелковые пленки, используемые в экспериментальных моделях кожных ран у крыс, способны ускорить заживление и дают меньшее воспаление, чем при использовании традиционных материалов. Композитные пленки из шелка и рекомбинантных коллагенов, аналогичные таковым у человека, обеспечивают большую жизнеспособность гепатоцитов, чем пленки из чистого шелка. Раствор фиброина, нанесенный на пленки из полиуретана и поликарбонатов, повышает адгезию и пролиферацию фибробластов человека [Архипова А. Ю., 2019; Боброва М. М., 2020; Sugihara, A. et al., 2000; Hu K. et al., 2006; Petrini P. et al., 2001; Chiarini A. et al., 2003].

В настоящее время в литературе широко освещены фибриновые гидрогели, применяемые в качестве скаффолдов для регенерации различных типов ткани. Фибриноген и фибрин являются естественной регенерирующей матрицей, обеспечивающей 3D-каркас для клеток, их миграцию и адгезию в область раны [Егорихина М. Н. и соавт., 2018]. Возможность достаточно просто модифицировать физико-химические свойства матрикса, высокая способность имитировать естественный ВКМ и превосходная полимеризация *in situ* для получения структуры,

которая гораздо лучше способствует образованию соединительной ткани, сделали возможным применение гидрогеля к применению в тканевой инженерии [Guan X. et al., 2017; Zhang Y. S., Khademhosseini A., 2017; Yu. Z. et al., 2020; Mehta S. et al., 2023].

Помимо этого, по данным литературы существует возможность транспортировки различных лекарственных препаратов посредством гидрогеля. Фибриновые гидрогели обратимо связываются с различными цитокинами, способствующим стимуляции репаративных процессов, такими как фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелия сосудов, нейротрофин-3 (NT-3) и фактор роста тромбоцитов [Janmey, P. A. et al., 2009; Johnson P. J. et al., 2010]. Кроме того, по данным различных авторов, гидрогели способны регулировать скорость высвобождения лекарственных средств, переносимых матриксом. S. J. Taylor et al. (2004) разработали систему переноса NT-3 на основе гепарина. Связывающий белок контактирует с фибриновым гидрогелем посредством ковалентного сшивания. В то же время гепарин связывает NT-3 посредством электростатического воздействия, а концентрация гепарина модулирует скорость высвобождения NT-3.

Y. Karabey-Akyurek et al. (2017) описывают использование наночастиц на основе поликапролактона. Известно, что клиническая эффективность и стабильность солумедрола имеют решающее значение в течение первых 8 часов применения [Bracken M. W., 2012]. Наночастицы на основе поликапролактона, несущие солумедрол, диспергируют в фибриновых гидрогелях. После имплантации крысам с острым повреждением спинного мозга фибрин и наночастицы защищают солумедрол от быстрого гидролиза, который поддерживает терапевтическую дозу 8 ч в месте повреждения. При местном применении авторы наблюдали более высокую способность к нацеливанию, что способствовало уменьшению выраженности проявлений повреждения спинного мозга на уровне каспазы-3, которая, в свою очередь, продемонстрировала

терапевтический эффект, аналогичный системному высокодозному метилпреднизолону.

Проблема выбора формы ВКМ для применения в регенеративной медицине остается на сегодняшний день весьма актуальной. Преимуществами ВКМ являются возможность контроля физико-химических свойств матрикса, и модификации самой структуры матрикса. Кроме того, возможность использования ВКМ для локальной доставки биологически активных веществ, лекарственных средств непосредственно в зону повреждения, все чаще находит свое применение при обширных раневых дефектах, когда системная транспортировка лекарственных средств невозможна или неэффективна.

Наиболее часто в литературе описывают использование ВКМ в форме пленок и фибриновых гидрогелей из матрикса. Гидрогели более удобны в клинической практике, за счет возможности доставки материала малоинвазивными способами, например, с помощью специальных катетеров или иглоуправляемыми хирургическими методами в разные анатомические зоны.

Однако необходимо сохранять биологическую активность геля, избегая при этом этапы очистки, за счет которых возможно уничтожение активных факторов роста, имеющиеся в нативном ВКМ [Митрошин А. Н. и соавт., 2019; Unger R. E. et al., 2004; Badylak S. F. et al., 2009]. Кроме того, при формировании геля формы используют достаточно агрессивные методы очистки коллагена, которые также могут привести к уничтожению биологически активных веществ [Probst F. A. et al., 2010].

1.3. ОСОБЕННОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

В основе патогенеза сахарного диабета (СД) лежит агрессивное действие гипергликемии, приводящее к развитию диабетической ангиопатии [Rask-Madsen C., King G., 2013, Chang M., Nguyen T. T., 2021; Rastogi A. et al., 2022]. На момент постановки диагноза СД 2 типа у 40 % пациентов уже имеются осложнения со стороны микроциркуляторного русла [Дедов И. И., 2010; Voelker R., 2023].

К диабетической ангиопатии относят специфическое поражение в основном мелких сосудов – капилляров, артериол и венул. Поражение крупных сосудов зачастую является следствием системного атеросклероза. Считается, что ангиопатии при сахарном диабете имеют полисегментарный двухсторонний характер, при этом чаще поражаются периферические сосуды ниже коленного сустава [Балаболкин М. И. и соавт., 2000; Бахарев И. В., Редькин Ю. А., 2003; Троицкая Н. И., Шаповалов К. Г., 2016; Rehman, Z. U. et al., 2023].

Современная концепция лечения гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы предполагает комплексный подход [Белик Б. М. и соавт., 2020]. В основе данной концепции лежит, прежде всего, полная разгрузка пораженной конечности, радикальная хирургическая обработка гнойно-некротического очага, рациональная антибактериальная и локальная терапия, адекватный контроль гликемии и индивидуально подобранная сахароснижающая и метаболическая терапия, органсохраняющая тактика ведения пациента с предельно возможным сохранением функции пораженной конечности [Светухин А. М. и соавт., 2008; Peters E. J., Lipsky B. A., 2013].

Выбор средств базисной антибактериальной терапии при гнойно-некротических осложнениях синдрома диабетической стопы обычно проводят по результатам микробиологического скрининга с дальнейшей, при возникновении необходимости, ее коррекцией по результатам микробиологических исследований [Белозерцева Ю. П. и соавт., 2014, «Российская ассоциация эндокринологов»,

«Московская ассоциация хирургов», 2015; Исхаков Р. Б., 2021]. В случаях легкого течения инфекции рекомендовано назначение антибиотиков, обладающих активностью в отношении грамположительных кокков – клиндамицин, амоксициллин/клавуланат, цефалоспорины I-III поколений, а в присутствии грамотрицательной микрофлоры – левофлоксацин, предпочтительнее – в комбинации с клиндамицином [Белозерцева Ю. П., 2021].

Клинические рекомендации под редакцией И. И. Дедова и соавторов (2017) предписывают применение цефалоспоринов II генерации, фторхинолонов, метронидазола, клиндамицина, даптомицина при гнойно-некротических осложнениях нейропатической формы диабетической стопы. При высоком риске возникновения метициллинрезистентного золотистого стафилококка или при его определении в посеве раневого отделяемого назначают ванкомицин или линезолид.

В. М. Бенсман (2015) рекомендует отдать предпочтение цефалоспоринам III и IV поколения (цефотаксим, цефтриаксон, цефпиром, цефепим, цефоперазон/сульбактам), фторхинолонам II поколения (левофлоксацин, моксифлоксацин, спарфлоксацин) и защищенным бета-лактамным препаратам, к которым бактериальная флора пациентов не успела утратить чувствительности. При подозрении на анаэробную неклостридиальную инфекцию добавляют метронидазол или клиндамицин. В случаях осложнения течения заболевания сепсисом, применяют карбапенемы, в сочетании с метронидазолом или клиндамицином.

Помимо антибиотикотерапии, постоянно ведется поиск новых средств консервативного лечения. Одним из открытий последнего десятилетия является применение простагландинов в комплексном лечении осложнений сахарного диабета. Данные препараты обеспечивают дилатацию артерий малого калибра, усиливают кровоток в капиллярах, повышают фибринолитическую активность крови, значительно снижают агрегацию и адгезию тромбоцитов и лейкоцитов [Корейба А. К. и соавт., 2014; Дедов И. И., 2015; Кисляков В. А. и соавт., 2015]. Однако существенный недостаток простагландинов заключается в том, что они

противопоказаны у пациентов с хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой системы, а это подавляющее большинство пациентов с СД.

Также известно, что пациенты, страдающие СД, имеют склонность к повышенной тромбогенности крови, таким образом, целесообразно назначение средств, влияющих на свертывающую систему. Активно используют антикоагулянты (нефракционированный гепарин, надропарин, эноксапарин, дальтепарин) дезагреганты (клопидогрель, пентоксифиллин, ацетилсалициловая кислота) и тромболитические препараты [Кисляков В. А., 2008; Дедов И. И., Шестакова М.В., 2015; Santaram V., 1999].

Обязательным условием в лечении гнойно-некротических осложнений синдрома ДС является функциональная разгрузка пораженной конечности на протяжении всего курса лечения и в периоде ремиссии. Существуют следующие виды разгрузки конечности: постельный режим, костыли, кресло-каталка, разгрузочный полуботинок, индивидуальная разгрузочная повязка (ИРП) и заменители ИРП (модулярные ортопедические аппараты, касты и ортезы) [Анциферов М. Б., Комелягина Е. Ю., 2013; Биниенко М. А., 2020].

«Золотым стандартом» разгрузки конечности на сегодняшний день принято считать индивидуальную разгрузочную повязку из полимерных материалов [Gotz J. et al., 2017]. Наиболее часто применяют ИРП на голень и стопу, отдельно на стопу. Выбор повязки, в целом, определяется особенностью и локализацией раневого дефекта, а также комплаентностью пациента. Эффективность и преимущество перед другими методами разгрузки лечения синдрома ДС с помощью ИРП доказана в многочисленных контролируемых исследованиях [Биниенко М. А., 2020; Jagadish M. et al., 2016; Rai S. et al., 2016; Held M. et al., 2017; Merheb M. et al., 2017]. Основным механизмом действия ИРП на голень и стопу является перераспределение нагрузки с передних отделов стопы на пяточную область и голень [Анциферов М. Б., Комелягина Е. Ю., 2013; Биниенко М. А., 2020].

В дополнение к основным стандартным методам лечения диабетических язв в последние десятилетия активно применяют эндоваскулярные вмешательства, направленные на реваскуляризацию пораженной стопы. Это значительно повысило и ускорило заживление язвенных дефектов при ишемической форме диабетической стопы, однако проблема заживления нейропатических язв, составляющих основную массу всех трофических нарушений нижних конечностей при сахарном диабете, остается открытой [Кисляков В. А. и соавт., 2015; Швец Л. И., Левина Ю. М., 2021].

Таким образом в настоящее время в основе лечения гнойно-некротических осложнений синдрома ДС лежит комплексный подход, позволяющий эффективно воздействовать на несколько компонентов патогенеза синдрома ДС одновременно. Такой подход, безусловно, позволяет снизить частоту гнойно-некротических осложнений синдрома ДС и, как следствие, риск высоких ампутаций нижних конечностей у таких пациентов и зачастую, дополнительных оперативных вмешательств, в целом. Однако данная концепция не лишена недостатков.

Учитывая большое количество сопутствующих заболеваний у данных пациентов, некоторые компоненты терапии могут быть противопоказаны, кроме того, достаточно часто, в виду сопутствующей диабетической энцефалопатии или же по другим причинам приверженность пациента к лечению может быть крайне низкая. Кроме того, на фоне периферической ангио- и нейропатии, биодоступность, а значит и эффективность системной терапии может быть снижена, что обуславливает поиск новых методов лечения, в том числе направленных непосредственно в гнойно-некротический очаг.

К тому же, данный подход не решает проблему коррекции оксидативного стресса, который играет не последнюю роль в замедлении процессов заживления у пациентов с синдромом ДС.

1.4. ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ТКАНЕЙ СТОПЫ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

В настоящее время, по данным различной литературы, существует довольно большое число прямых и косвенных, инвазивных и неинвазивных методов исследования процессов микроциркуляции. Имеются данные об использовании томографических, радиоизотопных, фотометрических методов. Помимо этого, для оценки микроциркуляции тканей используют ангиографию, биопсию, капилляроскопию, биомикроскопию, офтальмоскопию, полярографию, реовазографию, капиллярорезистометрию, термографию и другие различные способы [Глазков А. А., 2020; Wright C.I. et al., 2006; Backer D., 2010; Rizzoni D., 2018]. В последнее время больше внимания уделяют неинвазивным методам исследования – лазерной доплеровской флоуметрии, оптической инфракрасной термометрии, пульсоксиметре и фотоплетизмографии, которые показали определённую эффективность в диагностике нарушений функционирования микроциркуляторного русла [Рассказов Н. И. и соавт., 2004].

Одним из методов оценки системы микроциркуляции тканей стопы является метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), основанный на определении перфузии ткани кровью путем измерения доплеровского сдвига частот, возникающего при зондировании ткани излучением гелий-неонового лазера (λ 632,8 нм), с последующей регистрацией излучения, отраженного от подвижных и неподвижных компонентов ткани [Козлов В. И. и соавт., 1998; Бархатов И. В., 2013]. Отраженное от статических компонентов ткани лазерное излучение не изменяет своей частоты, а отраженное от подвижных частей (эритроцитов) имеет доплеровское смещение частоты относительно зондирующего сигнала, что позволяет определить скорость движения эритроцитов в зондируемом объеме ткани.

Регистрируемый при ЛДФ показатель микроциркуляции (ПМ) определяется следующей формулой:

$$\text{ПМ} = K \times N_{\text{эр}} \times V_{\text{ср}},$$

где K – коэффициент пропорциональности, имеющий размерность: $\text{с}/\text{мм} \cdot \text{вольт}$; $N_{\text{эр}}$ – концентрация эритроцитов в зондируемом объеме ткани; $V_{\text{ср}}$ – средняя скорость эритроцитов в микроциркуляторном русле. Величина ПМ представляет собой уровень перфузии объема ткани за единицу времени и измеряют в относительных единицах (перфузионных единицах – пф. ед.) [Козлов В. И. и соавт., 2012].

Помимо определения базового уровня перфузии для изучения кожной микроциркуляции крови с помощью ЛДФ проводят различные функциональные пробы, позволяющие повысить информативность исследования за счет оценки вовлечения регуляторных механизмов. Наиболее часто используют окклюзионную пробу, которая заключается в оценке вазодилатации периферического кровотока, вызываемой кратковременным пережатием сосудов конечности [Кузнецов Ю. Л. и соавт., 2014; Лапитан Д. Г., Рогаткин Д. А., 2016; Stirban A., 2014]. Пробу проводят путем повышения давления в манжете выше систолического, что в свою очередь приводит к артериовенозной окклюзии. После сброса давления в манжете и снятия окклюзии скорость кровотока резко возрастает, стоит отметить, что увеличение напряжения сдвига и ишемия во время окклюзии являются основными факторами, способствующими развитию потокзависимой дилатации и постокклюзионной реактивной гиперемии [Сагайдачный А. А., 2018]. С помощью выбранного инструментального метода проводят оценку вазодилататорного ответа, величина которого пропорциональна количеству выделившихся вазодилататоров. Показатели, необходимые исследователям, также включают в себя базальную перфузию, пиковую перфузию, абсолютные и относительные значения различий между базальной и пиковой перфузией и др. [Глазков А. А., 2020; Stiefel P. et al., 2012] На основе количественных параметров делают вывод о наличии (или отсутствии) снижения вазодилататорного ответа и рисков развития атеросклероза, гипертензии, сахарного диабета, ишемической болезни сердца, ишемического инсульта и др. [Higashi Y., 2015].

Помимо окклюзионной пробы, активно применяют температурные функциональные тесты. Проба с локальным нагреванием подразумевает воздействие повышенных температур выше 40–45 °С, продолжительностью 5–90 минут, в зависимости от целей исследования [Roustit M., Cracowski J. L., 2012]. В месте аппликации нагрева развивается вазодилататорная реакция – локальная тепловая гиперемия. В норме у обследуемых данная реакция состоит из двух фаз: начальный пик гиперемии и фаза плато [Cracowski J. L., Roustit M., 2016]. Начальный пик, в большей степени, обусловлен нервной регуляцией кровотока, фаза плато, в свою очередь зависит от функционирования эндотелия [Brunt V. E., Minson C. T., 2011]. При различных режимах нагрева вклад каждого из этих факторов различается, при быстром нагревании вклад вазодилататорных механизмов эндотелия усиливается [Choi P. J. et al., 2014]. Медленный нагрев (0,5 °С за 5 мин и более) снижает эффект реакции микроциркуляторного русла [Hodges G. J. et al., 2009].

Дополнительно для оценки функции микроциркуляторного русла используют холододовый тест. Среди холододовых тестов выделяют прямой (проводят на той же конечности) и контралатеральный [Мизева И. А., 2022]. Такой процесс вызывает вазоконстрикцию (артерий, артериол и аортовенулярных анастомозов), снижение кожного кровотока [Kellogg J., Dean L., 2006], и, возможно, увеличение артериального давления [Charkoudian N., 2003; Daanen H., 2003]. Непрямой холододовый тест применяют для оценки функции эндотелия.

Лазерная доплеровская флоуметрия нашла успешное применение в оценке состояния микроциркуляции у больных в эндокринологии, онкологии, урологии, офтальмологии, гастроэнтерологии, дерматологии, стоматологии, педиатрии, акушерстве и гинекологии, а также у больных с различными заболеваниями сердечно-сосудистой и дыхательной систем [Кириллова К. А., 2011; Горбунов Н. В. и соавт., 2012; Мусин И. И., Камалова К. А., 2018; Riva, C. E. et al., 2010; Karayilmaz H., Kirzioğlu Z., 2011].

Таким образом, существует множество способов оценки функционирования микроциркуляторного русла тканей стопы у пациентов с синдромом диабетической стопы. В настоящий момент предпочтение отдают неинвазивным методам исследования, среди которых все большее значение приобретает лазерная доплеровская флоуметрия. Данный способ при относительной простоте применения показывает достаточно информативную картину состояния системы микроциркуляции в мягких тканях нижних конечностей. Использование в тестировании функциональных проб только увеличивает точность исследования и позволяет оценить состояние регуляторных механизмов. Посредством ЛДФ возможно изучение состояния микроциркуляторного русла тканей нижних конечностей у пациентов, получающих антиоксидантную терапию в дополнение к стандартной терапии раневых осложнений синдрома ДС.

1.5. СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МЕСТНОМУ ЛЕЧЕНИЮ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Несмотря на различные подходы патогенетической терапии гнойно-некротических осложнений синдрома ДС, принципы местного лечения хронических ран оказались идентичными. Известна концепция обработки «основания раны» «Wound Bed Preparation [Falanga V., 2002], суть которой заключается в переводе хронической раны в острую и удаления как некротического компонента, состоящего из некротической ткани, так и фенотипически измененных клеток края и основания раны и продуцируемого ими экссудата [Храмин В. Н., 2005].

У пациентов с гнойно-некротическими осложнениями синдрома ДС целесообразно применять препараты, стимулирующие репаративные процессы в ране, тем самым способствующие росту грануляции и ускорению эпителизации. По

данным многих авторов считается обоснованным применение белковых и белково-полисахаридных композиционных биологических имплантатов [Валиева Г. Р., 2017].

Известны случаи применения в местном лечении ран у пациентов с синдромом ДС озона в концентрации 2–4 мг/л. Учитывая, что озон, растворенный в физиологическом растворе, содержится не более 3-4 часов, с последующим разрушением, в лечении длительно незаживающих ран используют озонированное масло. Е. Ж. Жолдошбеков и соавторы (2016) отмечали сокращение сроков заживления ран в среднем на 3–5 суток, рецидива гнойного процесса не отмечали. В результате авторы пришли к выводу, что использование озонированных растворов благоприятно воздействует на течение раневого процесса. Помимо стимуляции репаративных процессов, более высокие концентрации озона могут быть использованы и на стадии воспаления. Помимо местного лечения в клинической практике применяют эндолимфатическую озонотерапию, направленная в первую очередь на коррекцию бактериальной контаминации воспалительного очага, а также снижение риска генерализации инфекции, что [Золотухин О. В. и соавт., 2023]. Известен также комбинированный способ лечения гнойно-некротических ран у пациентов с синдромом ДС, включающий в себя баллонную ангиопластику артерий пораженной конечности и эндолимфатическую озонотерапию [Аралова, М. В., 2023].

В настоящее время в лечении ран у пациентов с синдромом ДС широко используют биоматериал «Коллост», представляющий собой высокоочищенный нереконструированный нативный бычий коллаген I типа. Данные различных исследований биосовместимости и иммунного ответа реципиента в экспериментах *in vivo* показали, что макромолекулярная структура и свойства биоматериала Коллост полностью идентичны таковым в ВКМ кожи человека [Дедов И. И. и соавт., 2013]. Введение данного биоматериала в область раны, по данным различной литературы, стимулирует иммунную систему и активацию клеток (гранулоцитов и макрофагов), способствующих заживлению, улучшает перенос

высвобождающихся из клеток факторов роста, усиливает миграцию и пролиферацию клеток [Майбородин И. В. и соавт., 2013; Ступин В. А. и соавт., 2017].

Н. В. Максимова и соавторы (2017) провели оценку результатов лечения язвенных дефектов II степени (по классификации Wagner) у пациентов с синдромом ДС в широкой клинической практике с использованием медицинского изделия «Коллост». Пациентам, участвующим в исследовании в края раны выполняли инъекции 7 % геля в количестве 0,1 мл за одну инъекцию и на расстоянии 0,5 см между местами инъекций, далее проводили закрытие раневого дефекта с помощью мембраны 60×50×1,5 мм, с наложением поверх мембраны гидроколлоидной повязки. В результате исследования авторы пришли к выводу, что применение биоматериала «Коллост» способствует существенному уменьшению площади поражения уже через 28 дней лечения, позволяя увеличить успешность лечения в 1,7 раза – до 72 % (по сравнению с 43 % в группе сравнения). Скорость регресса площади дефекта была наивысшей, и по этому показателю пациенты основной группы опережали группу сравнения на 2 недели.

М. Д. Дибиров и соавторы (2016) описывают результаты применения биоматериала «Коллост» и препарата эберпрот-п, представляющий собой эпидермальный человеческий рекомбинантный фактор роста, полученный на основе технологии рекомбинантной ДНК, по механизму действия идентичный эпидермальному эндогенному фактору роста, вырабатываемому организмом [Галстян Г. Р. и соавт., 2013]. Авторы отмечали, в целом, достижение положительной динамики раневого процесса у группы пациентов, в лечении которых использовали эберпрот-п, в отдаленные сроки.

Известен способ лечения хронических ран, в том числе, у пациентов с синдромом диабетической стопы, с использованием порошковой формы дигидрокверцитина, который наносят на раневую поверхность до самостоятельной эпителизации раны или до- и после выполнения аутодермопластики свободным

расщепленным кожным лоскутом [Олифирова О. С. и соавт., 2014]. Недостатком данного способа является необходимость ежедневных перевязок, способствующих травматизации грануляционной ткани.

За рубежом в настоящее время активно применяют эквиваленты кожи, такие как Dermagraft, представляющий собой биоинженерную ткань неонатального происхождения, состоящую из дермальных фибробластов [Marston W. A., 2004], посеянных на рассасывающуюся (полилактиновую) сетку размером 2×3 дюйма ($5 \times 7,5$ см). Трансплантат обеспечивает живой матрикс неонатальных фибробластов, продуцирующих коллаген, гликозаминогликаны и другие белки в сроки до двух недель [Gentzkow G. D. et al., 1996]. Также широко известен полнослойный кожный эквивалент, Apligraf, состоящий из дермального компонента — коллагеновой матрицы, заселенной неонатальными фибробластами человека, и эпидермального слоя, образованного из выращенных кератиноцитов на поверхности эквивалента. В нескольких многоцентровых рандомизированных клинических исследованиях определена эффективность применения Apligraf для лечения длительно не заживающих ран, в том числе при трофических язвах на фоне хронической венозной недостаточности, а также при язвах на фоне СД [Мелешина А. В. и соавт., 2017; Waymack P. et al., 2000; Fivenson D., Scherschun L., 2003].

Таким образом, последние клинические исследования и метаанализы по использованию биоматериалов для лечения гнойно-некротических осложнений синдрома ДС дают обнадеживающие результаты. В большинстве своем материалы представляют собой препараты коллагена 1-го типа, в сочетании с факторами роста и биологически активными веществами. Широко применяют кожные эквиваленты для закрытия обширных дефектов нижних конечностей, в том числе диабетических язв, длительно незаживающих послеоперационных ран. Концепция «Wound Bed Preparation» позволяет подготовить раневую поверхность для трансплантации кожных эквивалентов, и, следовательно, играет безусловную роль в улучшении результатов лечения хронических ран у пациентов с СД. Однако при достаточно

широком выборе биоматериалов, такие вопросы, как выбор формы трансплантата, равно как и возможность транспортировки в ткани биологически активных веществ и лекарственных средств, посредством импрегнации в трансплантат, а также контроля их концентрации, остаются на сегодняшний день недостаточно изученными.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Тип исследования – открытое одноцентровое рандомизированное проспективное.

Система методов, применяемых в исследовании, была определена исходными методическими предпосылками, целями и задачами как всего исследования в целом, а также его отдельных этапов (рисунок 1).



Рисунок 1 – Дизайн исследования

2.2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Исследования на животных выполняли в соответствии с приказом Минздрава СССР от 11.10.1983 и № 267 Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003, а также международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» [Washington D. C. 1996] и требованиями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986), принципами ГОСТ 33044-2014 «Надлежащая лабораторная практика».

Экспериментальную часть проводили на базе Медицинского института Пензенского государственного университета (директор института и заведующий кафедрой хирургии д.м.н., профессор А. Н. Митрошин), «Центра доклинических исследований» (директор центра И. В. Ефимова) (ветеринарное удостоверение 258 № 0003806 от 23.12.2008, выдано ФГБОУ ВО «Пензенский государственный аграрный институт», сертификат аккредитации ООО «Технопарк «Сколково» № 001238 от 25.01.2019) и «Центра перспективных исследований инновационных лекарственных средств» Национального исследовательского Мордовского государственного университета (руководитель центра, д.м.н., доцент Н. А. Пятаев). На проведение эксперимента было получено разрешение локального этического комитета Медицинского института Пензенского государственного университета (протокол № 5 от 28.01.2022).

В качестве экспериментальных животных были выбраны половозрелые крысы-самцы линии «Wistar» массой от 200 до 400 г.

Расчет количества экспериментальных животных для каждой группы проводили по формуле

$$n = \frac{(z_{\alpha} + z_{\beta})^2}{\delta^2} \cdot \sigma^2,$$

где n – число животных в каждой группе; z_{α} и z_{β} – критические значения нормального распределения, соответствующие заданным уровням ошибок I и II рода. Для мощности теста в 80 %, уровня достоверности 0,05 верны значения

$z_{\alpha} = 1,96$ и $z_{\beta} = 0,84$ (критические значения z стандартного нормального распределения); δ – разница измеряемых величин ($\mu_2 - \mu_1$); σ – стандартное отклонение [Исламов Р. А., 2016].

Данные для вычисления были взяты из работы А.В. Шаброва (2018) по изучению эффективности ранних внутрипросветных вмешательств при химическом ожоге пищевода уксусной кислотой в эксперименте.

Группы 1 и 2 в данном эксперименте являлись основными. В группу 1, вошли животные, которым предстояло выполнить аппликацию коллагенового геля, импрегнированного антиоксидантом с последующей имплантацией поверх геля листовой формы внеклеточного матрикса (ВКМ), без импрегнации препаратами. Группу 2 представили животные, которым на раневую поверхность укладывали лишь листовую форму ВКМ, импрегнированного антиоксидантом. Группа 3 являлась контрольной и представляла собой животных, которым выполняли имплантацию нативного ВКМ без импрегнации препаратами. Сроки вывода из эксперимента составили 7, 14 и 30-е сутки эксперимента.

Таким образом, количество особей в каждой группе составило:

$$n = \frac{(1,96+0,84)^2}{15^2} \cdot 18^2 = 11,28 \text{ особей,}$$

округлив значение в большую сторону до 12 животных в каждой группе.

2.2.1. Выбор формы внеклеточного коллагенового матрикса

Для выбора формы ВКМ на базе ООО «Кардиоплант» (руководитель – к.б.н., А. А. Венедиктов, соисполнитель работы – инженер-исследователь М. В. Гурин) провели сравнительную оценку так называемой «листовой формы матрикса» - лиофилизированной барьерной мембраны из подслизистой оболочки тонкой кишки свиньи и «коллагенового геля из матрикса» - децеллюляризованного внеклеточного коллагенового матрикса. В эксперименте использовали две группы образцов матрикса, размерами: 1 группа – 1 × 1 см (5 шт), 2 группа – навески геля по 5 г (таблица 1).

Таблица 1 – Описание образцов

Признаки	Группа 1 кусочки матрикса 1 × 1 см	Навески геля
Вид медицинского изделия	217870	217870
Класс потенциального риска	2б	2б
Показания к применению	Покрытие ран	Наполнение ран
Противопоказания	Отсутствует	Отсутствует
Происхождение	Свиной коллаген	Свиной коллаген
Состав	Коллаген I и III типов	Коллаген I и III типов
Наличие обработки сшивающим агентом	Отсутствует	Отсутствует

В работе использован метод капиллярного насыщения образцов матрикса раствором этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола), капиллярного насыщения обезвоженных сахарным сиропом в процессе производства образцов раствором этилметилгидроксипиридина сукцината, а также метод гелеобразования. Оценку выхода препарата из образцов осуществляли посредством спектрофотометрии.

Схема импрегнации:

1. Образцы 1 группы 5 шт. взвесили до насыщения, погрузили в раствор этилметилгидроксипиридина сукцината в концентрации 50 мг/мл, дали набухнуть

10 мин, затем достали и повторно взвесили, лиофилизировали и опять взвесили, рассчитали, количество вещества этилметилгидроксипиридина сукцината по остаточному содержанию и влагоудерживающую способность материала, подсчитали среднее значение.

2. Навески геля 5 г смешали с раствором препарата этилметилгидроксипиридина сукцината концентрацией 50 мг/мл, объемом 2,5 мл до образования однородной гелеобразной полужидкой массы, распредели ее равномерно по дну чашки Петри, заморозили и лиофилизировали.

Расчет дозы выполняли на основании значения показателя разовой дозы для человека из инструкции по применению данного лекарственного средства. Данный показатель составил 2–3 мг/кг массы тела, среднее значение показателя составило 2,5 мг/кг массы тела внутримышечно 3 раза в сутки. Расчет объема коллагенового геля выполняли с учетом размера листовой формы ВКМ, имплантируемой на раневую поверхность. Пересчет дозы для экспериментальных животных проводили с учетом коэффициентов для межвидового переноса доз, зависящих от массы тела: для человека данный коэффициент при массе 70 кг составляет 39, для крысы с массой 0,4 кг – 6 [Хабриев Р. У., 2005; Шабров А. В., 2019].

2.2.2. Моделирование раневого дефекта и имплантация внеклеточного коллагенового матрикса

Для имплантации на раневую поверхность использовали комбинированный образец внеклеточного коллагенового матрикса, выполненный из двух составляющих – децеллюляризованного коллагенового матрикса в форме коллагенового геля и лиофилизированной барьерной мембраны из подслизистой оболочки тонкой кишки свиньи (листовая форма) (производства ООО «Кардиоплант», Россия, Пенза).

Техника оперативного вмешательства. Кожу обрабатывали раствором йодопирона и дважды 70 % раствором этилового спирта. Животных подвергали общей анестезии методом масочного эфирного наркоза по открытому контуру.

Выполняли продольный разрез длиной 2 см по срединной линии спины, далее выделяли подкожный карман до 2×2 см, в который выполняли имплантацию ВКМ. Фиксацию имплантата к окружающим тканям не проводили. Следующим этапом раневой дефект закрывали узловыми кожными швами и накладывали асептическую повязку. Для нивелирования побочных эффектов наркоза и пробуждения крысы вводили кофеина бензоата внутримышечно 1 мл 10 % раствора. В течение 30 минут контролировали состояние животных до выхода из наркоза.

Таким образом, в исследование вошли 36 половозрелых крыс-самцов линии «Wistar», массой не менее 200 г и не более 400 г. Экспериментальные животные разделены на три группы: две основных – с имплантацией ВКМ, импрегнированного этилметилгидроксипиридина сукцинатом, и одна контрольная – с имплантацией нативного ВКМ без импрегнации препаратами. Количество животных в каждой группе составило 12 особей.

Первой группе в зону раневого дефекта была осуществлена аппликация коллагенового геля, импрегнированного этилметилгидроксипиридина сукцинатом объемом 1 мл, затем уложена листовая форма ВКМ размером 1×1 см, без импрегнации этилметилгидроксипиридина сукцинатом.

Второй группе уложена только листовая форма ВКМ размером 1×1 см, импрегнированного этилметилгидроксипиридина сукцинатом.

Контрольной группе в зону раневого дефекта уложена листовая форма ВКМ размером 1×1 см, без импрегнации препаратами (рисунки 2–5).

В послеоперационном периоде животных содержали в условиях вивария в просторных клетках с сетчатым дном на стандартном пищевом режиме. Проводили динамическое наблюдение за состоянием операционных ран, оценку двигательной активности. Осложнений в раннем послеоперационном периоде, связанных с наркозом не отмечено.



Рисунок 2 – Начальный этап операции

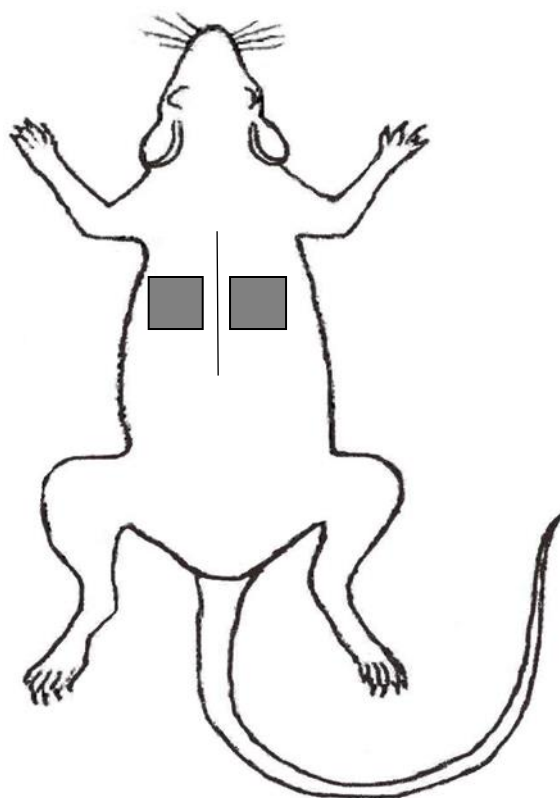


Рисунок 3 – Схема имплантации образцов



Рисунок 4 – Формирование раневого дефекта

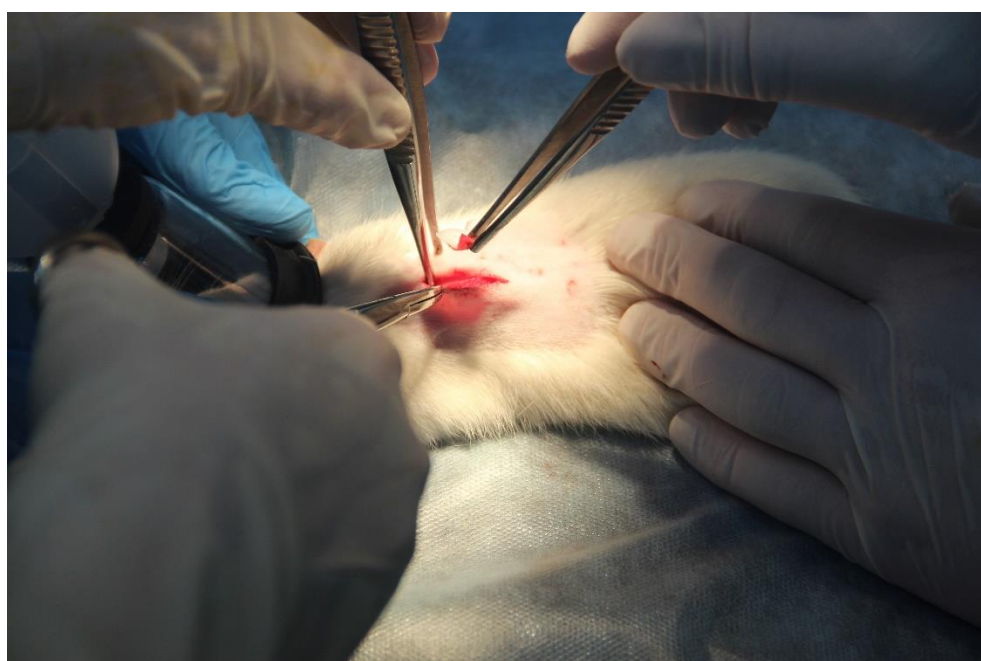


Рисунок 5 – Имплантация внеклеточного коллагенового матрикса

У экспериментальных животных основных и контрольной группы выполняли забор крови до имплантации внеклеточного коллагенового матрикса, а также на 7, 14, 30-е сутки с последующим центрифугированием при 3000 оборотов в течение

3 мин. Полученные образцы сыворотки крови замораживали при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Из эксперимента животных выводили путем передозировки средств для анестезии (ксилазин+золетил) с последующим кровопусканием путем пересечения сонных артерий справа и слева через 7, 14 и 30 суток после операции. Из эксперимента поочередно выводили по 4 животных каждой группы.

2.3. ОЦЕНКА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА

Биохимическое исследование образцов сывороток крови, полученных в эксперименте, проводили на базе «Центра перспективных исследований инновационных лекарственных средств» Национального исследовательского Мордовского государственного университета (руководитель центра, д.м.н., доцент Н. А. Пятаев, соисполнитель работы – младший научный сотрудник В. П. Агеев).

Собранные образцы сывороток крови экспериментальных животных размораживали при температуре $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Исследование проводили с оценкой следующих параметров:

- уровня диеновых конъюгатов и триеновых конъюгатов;
- уровня каталазы;
- уровня церулоплазмينا;
- уровня супероксиддисмутазы.

2.3.1. Определение уровня диеновых и триеновых конъюгатов

Метод основан на выявлении содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в сыворотке крови по поглощению липидным экстрактом монохроматического светового потока в ультрафиолетовой области спектра. Диеновые (ДК) и триеновые (ТК) конъюгаты экстрагируются в гептан-

изопропанольных фракциях. В гептане экстрагируются в основном нейтральные липиды, а в изопропанолe – фосфолипиды. Таким образом, гептановая фракция свидетельствует об активности ПОЛ в нейтральных липидах, а изопропанольная свидетельствует об активности в фосфолипидах.

К 0,2 мл плазмы крови добавляли 2 мл гептан-изопропанольной смеси в соотношении 1:1, встряхивали в течение 5 мин. Далее гептан-изопропанольные фракции переносили в чистые пробирки без остатков сыворотки крови и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин. После чего 0,5 мл верхней гептановой и нижней изопропанольной фаз переносили в чистые пробирки и добавляли 2 мл 96 % раствора этанола. Замер оптических плотностей полученных проб выполняли на спектрофотометре СФ-103. Гептановую фазу оценивали против этанола при длине волны 233 нм (поглощение ДК). Изопропанольную фазу оценивали при длине волны 278 нм (поглощение 1 К). Содержание ДК, ТК оценивали по относительным величинам $E_{232}/\text{концентрация общих липидов}$, $E_{278}/\text{концентрация липидов}$ и выражали в относительных единицах [Хышиктуев Б. С. и соавт., 1996].

2.3.2. Определение уровня каталазы

Принцип метода основан на способности пероксида водорода образовывать при взаимодействии с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Реакцию запускали добавлением 0,1 сыворотки крови к 2 мл 0,03 % раствора пероксида водорода. В холостую пробу вместо сыворотки крови добавляли дистиллированную воду. Реакцию останавливали через 10 мин добавлением 1 мл 4 % молибдата аммония. Интенсивность окраски измеряли на длине волны 410 нм против контроля на реактивы (2 мл воды, 0,1 мл исследуемой жидкости, 1 мл молибдата аммония).

Активность каталазы рассчитывали по формуле

$$E = (A_{\text{хол.пр}} - A_{\text{оп.пр}}) / v \cdot t \cdot k,$$

где $A_{\text{хол.пр}}$, $A_{\text{оп.пр}}$ – активность холостой и опытной проб соответственно; $k = 22,2 \cdot 10^3 \text{ мм}^{-1} \text{ см}^{-1}$; t – время (600 с); v – объем исследуемой жидкости (0,1 мл) [Колб В. Г., 1982; Шабров А. В., 2019].

2.3.3. Определение уровня церулоплазмина

Активность церулоплазмина определяли модифицированным методом Ревина, основывающегося на окислении р-фенилендиамина в присутствии этого фермента. Ферментативную реакцию останавливали добавлением фтористого натрия. По оптической плотности образующихся продуктов судили о концентрации церулоплазмина.

В обычные пробирки вносили по 0,1 мл гомогената. В контрольную пробирку добавили 2 мл раствора фтористого натрия (с целью остановки реакции). Далее во все пробирки помещали по 8 мл ацетатного буфера и по 1 мл раствора р-фенилендиамина (используемого в качестве субстрата). Пробирки встряхивали и ставили на 1 ч в водяную баню при температуре 37 °С. После инкубации, во все пробирки, кроме контрольной, доливали по 2 мл раствора фтористого натрия. Содержимое пробирок перемешивали и переносили в холодильник, где выдерживали в течение 30 мин при температуре 4 °С.

Пробы колориметровали на фотоэлектрическом колориметре с зеленым светофильтром (530нм) в кюветах с шириной слоя 10 мм. Результаты сравнивали с данными контрольной пробы (бледно-розовая окраска). Умножали значения оптической плотности на коэффициент пересчета 875, получали величину концентрации церулоплазмина (мг/л) [Колб В. Г., 1982; Шабров А.В., 2019].

2.3.4. Определение уровня супероксиддисмутазы

Активность данного фермента определяли по ингибированию скорости восстановления тетразолия нитросинего (НСТ) в неэнзиматической системе феназинметасульфата (ФМС) и НАД-Н. Среда инкубации общим объемом 3 мл содержала 0,1М фосфатный буфер рН 7,8, 0,41 мМ НСТ, 0,01 мМ ФМС и 0,8 мМ

НАДФ-Н. В опытную пробу также вносили супернатант в количестве около 0,1 мл. Реакцию запускали добавлением НАДФ-Н, после чего проводили спектрофотометрическую оценку по приросту экстинкции через каждую минуту в течение 5 мин, либо суммарно через 5 мин при 540 нм. За единицу активности супероксиддисмутазы принимали количество фермента, необходимого для 50 % ингибирования восстановления НСТ. Расчет вели по формуле

$$\left(100 - \frac{E_0 \cdot 100}{E_k}\right) / 50 \text{ мг белка} = \text{усл. Ед на 1 мг белка},$$

где E_0 и E_k – среднее значение прироста экстинкции за 1 мин ($E/5$ мин) соответственно в опытной и контрольной пробах, когда скорость реакции была близка к линейной. Об активности каталазы судили по убыли пероксида водорода (в мкмольях в 1 мин на 1 мг белка) при 240 нм в течение 5 мин. НАДФ-Н – пероксидазную реакцию проводили в среде инкубации, в которой донор водорода глутатион заменен на НАДФ-Н, по его убыли в микромолях на 1 мг белка оценивали энзиматическую активность. Содержание белка определяли по Лоури [Матюшин Б. Н. и соавт., 1991; Шабров А.В., 2019].

2.4. КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

2.4.1. Расчет объема выборки и анализ мощности исследования

Расчет размера выборки производили по формуле

$$N = 2 \times (Z_{a/2} + Z_b)^2 / (d/SD)^2,$$

где N – рассчитываемый объем выборки; $Z_{a/2}$ и Z_b – значения нормального распределения при вероятности $a/2$ и b соответственно; d – клинически значимая разность групповых средних значений; SD – среднеквадратическое отклонение (Тихонова Г. П., 2016).

Значения $Z_{a/2} = 1,96$ и $Z_b = 0,84$ являются стандартными. Значения d и SD взяты из работы А. Н. Беляева и Н. С. Полькиной (2021).

При планировании исследования применяли мощность исследования равной 80 %, так как в этом случае создаются условия для получения «большого эффекта вероятности» [Cohen J., 1988].

Таким образом, для достижения мощности исследования в 80 %, при допущенной ошибке 1-го порядка 0,05 предполагаемый объем выборки должен составлять 96 человек по 48 человек в каждой группе, если число выбывших из исследования не будет превышать 5 %:

$$N = 2 * (1,96 + 0,84)^2 / (1,22/2,13)^2 = 95,59.$$

2.4.2. Характеристика исследуемых групп больных

Клиническое исследование проводили в соответствии с уровнем достоверности доказательств 1b на основании руководства Оксфордского центра доказательной медицины [Levels of Evidence. Oxford centre for evidence based medicine, 2009] на базе отделения гнойной хирургии ГБУЗ «Клиническая больница № 6 им. Г. А. Захарьина» в период с 2022 по 2024 г.

Исследование включало в себя несколько этапов:

1. Комплексное клиничко-лабораторное обследование больных.
2. Информирование пациентов о существующих методах лечения хронических ран нижних конечностей на фоне синдрома диабетической стопы, получение письменного добровольного согласия на участие в исследовании.
3. Имплантация внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом.
4. Исследование ближайших результатов имплантации, включая оценку микроциркуляции тканей стопы.

Критерии включения пациентов в исследование:

- совершеннолетние пациенты, имеющие в анамнезе сахарный диабет 1 и 2 типов, с длительно незаживающими ранами нижних конечностей,

в том числе послеоперационные раны после выполнения оперативных вмешательств по поводу гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы;

- наличие письменного информированного добровольного согласия пациента на участие в исследовании.

Критерии исключения пациента из исследования:

- отказ пациента от участия в исследовании;
- критическая ишемия пораженной конечности, требующая неотложной реваскуляризации;
- распространенная гангрена конечности;
- наличие тяжелых сопутствующих заболеваний в стадии декомпенсации.

В исследование включены 96 пациентов с нейропатической, ишемической и нейро-ишемической формами синдрома диабетической стопы, имеющих хронические (в том числе послеоперационные) раны нижних конечностей, среди них 54 мужчины и 42 женщины. Распределение пациентов по полу и возрасту представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение больных по полу и возрасту (ВОЗ, 2000)

Возрастная группа	Жен.		Муж.		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Молодой возраст (18–29)	2	4,8	1	1,9	3	4,8
Младший средний возраст (30–44)	3	7,1	4	7,4	7	13,1
Старший средний возраст (45–59)	14	33,3	13	24	27	28,6
Пожилой возраст (60–74)	23	54,8	36	66,7	59	53,5
Итого	42	100	54	100	96	100

Среди пациентов преобладали люди пожилого возраста (53,5 %) и мужского пола (66,7 %).

Все обследуемые были разделены на две группы. В основную группу вошли 48 человек, в лечении которых помимо стандартной терапии (локальная, антибактериальная, антикоагулянтная, дезагрегантная терапия, разгрузка пораженной конечности, радикальная хирургическая обработка гнойно-некротического очага, коррекция гликемии и метаболических нарушений) применяли ВКМ, импрегнированный антиоксидантом (патент РФ № 2793889). В группу сравнения вошли 48 человек, которым проводили только стандартную терапию при гнойно-некротических осложнениях синдрома диабетической стопы, включая внутривенные инъекции этилметилгидроксипиридина сукцината в дозировке 200 мг 2 раза в день. На клиническое исследование получено разрешение локального этического комитета Медицинского института Пензенского государственного университета (протокол № 5 от 28.01.2022).

Распределение пациентов по полу в исследуемых группах представлено в таблице 3.

Таблица 3 – Распределение пациентов по полу

Пол	Основная группа, <i>n</i> = 48		Группа сравнения, <i>n</i> = 48		<i>P</i>
	абс.	%	абс.	%	
Мужчины	26	54,1	28	58,3	0,8919
Женщины	22	45,9	20	41,7	0,8776
Всего	48	100	48	100	

В основной группе было 26 (54,1 %) мужчин и 22 (45,9 %) женщины, в группе сравнения соответственно – 28 (58,3 %) мужчин и 20 (41,7 %) женщин. Статистически значимых различий в обеих группах по полу не отмечено ($p > 0,05$).

Распределение пациентов по возрасту в исследуемых группах представлено в таблице 4.

Таблица 4 – Распределение больных по возрасту

Возраст	Основная группа, <i>n</i> = 48		Группа сравнения, <i>n</i> = 48		<i>P</i>
	абс.	%	абс.	%	
Молодые (18–29 лет)	2	4,2	1	2,1	0,3865
Младший средний возраст (30–44 лет)	3	6,2	4	8,3	0,3208
Старший средний возраст (45–59 лет)	12	25	15	31,2	0,4519
Пожилые (60–74 года)	31	64,6	28	58,3	0,1487
Всего	48	100	48	100	

В основной группе 31 пациент (64,6 %) были пожилого возраста, 12 пациентов (25 %) старшего среднего возраста и 3 пациента (6,2 %) младшего среднего возраста.

В группе сравнения большинство также составили люди пожилого возраста – 28 пациентов (58,3 %), старшего среднего возраста – 15 пациентов (31,2 %), в возрасте от 30 до 44 лет в данной группе состояло 4 пациента (8,3 %), и 1 пациент (2,1 %) находился в возрастном диапазоне 18–29 лет.

У пациентов обеих групп среди сопутствующих заболеваний наиболее часто встречались гипертоническая болезнь - 40 пациентов (83,3 %) основной группы и 32 пациента (66,7 %) группы сравнения; ишемическая болезнь сердца, аритмии выявлены у 24 пациентов (50 %) основной группы и 29 пациентов (60,4 %) группы сравнения. Хронические заболевания желудочно-кишечного тракта встречались у 19 пациентов основной группы (39,6 %) и 21 пациента группы сравнения (43,8 %). В основной группе у 22 пациентов (45,8 %) и 17 пациентов в группе сравнения (35,4 %) выявлена хроническая венозная недостаточность. По наличию сопутствующих заболеваний группы сопоставимы ($p > 0,05$).

Наличие сопутствующей патологии у пациентов обеих групп представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Распределение пациентов в зависимости от сопутствующей патологии

Сопутствующая патология	Основная группа, <i>n</i> = 48		Группа сравнения, <i>n</i> = 48		Всего		<i>P</i>
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Гипертоническая болезнь	40	83,3	32	66,7	72	75	0,593
Заболевания сердечно-сосудистой системы (ишемическая болезнь сердца, аритмии)	24	50	29	60,4	53	55,2	0,3048
Заболевания дыхательной системы (хронический обструктивный бронхит, бронхиальная астма, пневмосклероз)	6	12,5	11	22,9	17	17,7	0,1813
Хроническая венозная недостаточность	22	45,8	17	35,4	39	40,6	0,2142
Заболевания желудочно-кишечного тракта (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, хронический панкреатит)	19	39,6	21	43,8	40	41,7	0,6788
Всего	111	231,2	110	229,2	221	230,2	

В обеих исследуемых группах у наибольшего количества пациентов преобладала нейропатическая форма синдрома ДС – 26 пациентов (54,1 %) основной группы и 29 пациентов (60,4 %) в группе сравнения. Ишемическая форма синдрома ДС преобладала у 14 пациентов (29,2 %) основной группы и 9 пациентов (18,8 %) в группе сравнения. Смешанная форма встречалась у 8 пациентов основной группы (16,7 %) и 10 пациентов группы сравнения (20,8 %). Распределение пациентов по форме синдрома ДС представлено в таблице 6.

Таблица 6 – Распределение пациентов в зависимости формы синдрома диабетической стопы

Форма синдрома диабетической стопы	Основная группа, $n = 48$		Группа сравнения, $n = 48$		P
	абс.	%	абс.	%	
Нейропатическая	26	54,1	29	60,4	0,7877
Ишемическая	14	29,2	9	18,8	0,4049
Нейро-ишемическая	8	16,7	10	20,8	0,8145
Всего	48	100	48	100	

Таким образом, группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту, наличию сопутствующих заболеваний и форме синдрома ДС ($p > 0,05$).

Анализ динамики раневого процесса проводили визуально по нескольким параметрам – сроков эпителизации, уменьшения размеров раневого дефекта. Учитывая неровность краев раны, оценку изменения площади выполняли при помощи механического курвиметра с шагом в 1 см (рисунок 6).



Рисунок 6 – Определение площади раневой поверхности посредством курвиметра

Расчет проводили по формуле

$$S = \frac{L^2}{4\pi},$$

где S – площадь раны; L – длина окружности раны в сантиметрах.

В обеих группах преобладали пациенты с сахарным диабетом 2 типа – 36 пациентов в основной группе (75%) и 39 пациентов в группе сравнения (81,2%) (таблица 7). Сахарный диабет 1 типа в анамнезе встречался у 12 пациентов основной группы (25%) и 9 пациентов группы сравнения (18,8%). Уровень гликированного гемоглобина в обеих группах находился в диапазоне 6,5-9,9%. Среди пациентов, страдающих СД 2 типа, 10 человек в основной группе (27,8%) и 13 человек в группе сравнения (33,3%) помимо сахароснижающих таблетированных препаратов (метформин, аллоглиптин, гликлазид, манинил) получали инсулинотерапию. Дозы пролонгированного инсулина варьировались в диапазоне 8-36 единиц дважды в день, инсулин короткого действия – в дозе 10-14 единиц трижды в день и назначались в зависимости от уровня гликемии. Таким образом, группы пациентов были сопоставимы по типу СД ($p > 0,05$). Кроме того, у всех пациентов, участвовавших в исследовании, наблюдали компенсацию СД, повышения уровня глюкозы выше 12,3 ммоль/л на протяжении исследования не наблюдали. Эпизодов гипогликемии в течение всего периода исследования в сравниваемых группах также не отмечали.

Таблица 7 – Распределение пациентов в зависимости от типа сахарного диабета

Тип сахарного диабета	Основная группа, $n = 48$		Группа сравнения, $n = 48$		P
	абс.	%	абс.	%	
Сахарный диабет 1 типа	12	25	9	18,8	0,3577
Сахарный диабет 2 типа	36	75	39	81,2	0,4822
Всего	48	100	48	100	

2.4.3. Оценка микроциркуляции тканей нижних конечностей

Всем пациентам перед началом лечения и на 5, 10 и 14-е сутки после имплантации проводили исследование микроциркуляции крови в тканях нижних конечностей посредством лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), основанной на оптическом неинвазивном зондировании тканей лазерным излучением и анализе рассеянного и отраженного от движущихся в тканях эритроцитов излучения.

Отраженное от статических (неподвижных) компонентов ткани лазерное излучение не изменяет своей частоты, а отраженное от подвижных частиц (эритроцитов) – имеет доплеровское смещение частоты относительно зондирующего сигнала. Переменную составляющую отраженного сигнала определяли двумя факторами: концентрацией эритроцитов в зондируемом объеме и их скоростью. Глубина оптического зондирования ткани зависела от длины волны лазерного источника и от типа ткани. Для лазерного излучения на длине волны 632 нм она составляет около 1 мм [Козлов В. И. и соавт., 2012].

Исследование проводили неинвазивным способом, с помощью лазерного анализатора «ЛАЗМА-СТ». Датчик аппарата устанавливали на большом пальце пораженной стопы, при его отсутствии или невозможности проводить исследование на данном пальце – в первом межпальцевом промежутке или на других пальцах. При исследовании микроциркуляции оценивали следующие параметры:

1. Показатель микроциркуляции – средней величины перфузии тканей кровью (ПМ);
2. «Флакс» – СКО (среднего квадратичного отклонения колебаний ПМ в заданном промежутке времени);
3. Индекса флаксмоций (ИФМ) – соотношение механизмов активной и пассивной модуляции тканевого кровотока.

2.5. МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ

Для обработки полученных данных использовали статистические пакеты STATISTICA 10, JASP 0.18.3. Полученные цифровые данные были обработаны методами вариационного математического анализа.

Для анализа имеющегося материала использовали описательную статистику, корреляционный анализ, параметрические и непараметрические методы. Для создания матрицы данных была также использована программа Excel 7.0 Microsoft Office.

На первом этапе анализа количественных данных устанавливали, соответствует ли вид распределения значений изучаемого признака закону нормального распределения. Для этого применяли критерий Шапиро – Уилка. С помощью методов описательной статистики для количественных данных при нормальном распределении вычисляли среднее значение (M), среднее квадратическое отклонение (σ) и ошибку среднего (m); при ненормальном распределении определяли медиану (Me), 25 и 75 процентиля ($Q25\%$ и $Q75\%$).

Значимость различий между группами по каждому количественному признаку оценивали по t -критерию Стьюдента при нормальном распределении. При ненормальном распределении использовали непараметрические методы оценки (критерии Манна – Уитни, Краскела–Уоллиса). При $p < 0,05$ отличие считали достоверным. Для критерия Краскела-Уоллиса отличие считали достоверным при $p < 0,1$. Для оценки значимости малых по объему выборок применяли точный критерий Фишера. Если точный тест Фишера не мог быть использован, применяли χ^2 (хи-квадрат).

Для анализа динамики площади раневого дефекта в сравниваемых группах применяли дискретный анализ времени до наступления события (сокращение площади раневой поверхности на 50%), при этом использовали бинарную логистическую регрессионную модель отношения рисков с вычислением 95% доверительных интервалов и статистической значимости.

Показатели, характеризующие эффект вмешательства, рассчитывали в соответствии с рекомендациями Г. П. Котельникова, А.С. Шпигеля (2012) с позиции доказательной медицины:

ЧИЛ – частота исходов в группе лечения:

$$\text{ЧИЛ} = a/(a+b);$$

ЧИК – частота исходов в контрольной группе:

$$\text{ЧИК} = c/(c+d).$$

Для ЧИЛ и ЧИК в работе приведены 95 % доверительные интервалы (95 % ДИ), рассчитанные по методу Вилсона [Newcombe R. G., 1998]. За неблагоприятный исход, свидетельствующий о недостаточной эффективности лечения принимали появление вторичных некротических масс в ране, что говорило о рецидиве некротического процесса.

СОР (снижение относительного риска) – относительное уменьшение частоты неблагоприятных исходов в группе лечения по сравнению с контрольной группой:

$$\text{СОР} = (\text{ЧИК} - \text{ЧИЛ})/\text{ЧИК} \text{ или } \text{СОР} = \text{ОР} - 1,$$

где ОР – относительный риск = ЧИЛ/ЧИК.

Расчет 95 % доверительных интервалов проводили по методу M. J. Gardner и D.G. Altman для относительного риска (1994).

САР (снижение абсолютного риска) – арифметическая разница в частоте неблагоприятных исходов между группами контроля и лечения:

$$\text{САР} = \text{ЧИК} - \text{ЧИЛ}.$$

ЧБНЛ – число больных, которых необходимо лечить определенным методом в течение определенного времени, чтобы предотвратить определенный неблагоприятный исход у одного больного; приведён вместе с 95 % ДИ:

$$\text{ЧБНЛ} = 1/\text{САР} \text{ или } 1/\text{ПАП},$$

где ПАП – повышение абсолютной пользы.

Доверительные интервалы для ПАП и ЧБНЛ (обратные величины) рассчитывали по L.M. Vjerre и J. LeLorier (2000).

ОШ – отношение шансов события (осложнения) в группе лечения разработанным способом с применением внеклеточного матрикса к шансам события в группе, в лечении которых применяли только стандартную терапию:

$$\text{ОШ} = a/b : c/d.$$

Доверительные интервалы для ОШ рассчитывали по J. M. Bland и D. G. Altman (2000).

Для выявления связи между отдельными признаками использовали частные коэффициенты корреляции. При $p < 0,05$ коэффициент корреляции достоверно отличался от нуля.

ГЛАВА 3

ЛЕЧЕНИЕ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

3.1. КОНСЕРВАТИВНАЯ ТЕРАПИЯ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Тактика лечения гнойно-некротических осложнений синдрома ДС соответствовала клиническим рекомендациям [Российская ассоциация эндокринологов, 2022], зависела от формы синдрома ДС и не различалась в сравниваемых подгруппах пациентов.

Консервативная терапия включала в себя:

1. Коррекция углеводного обмена. Со дня поступления всем пациентам проводили суточное мониторирование глюкозы крови 4 раза в сутки ежедневно в течение 3 дней. Обследуемым с декомпенсацией СД при поступлении назначали инсулинотерапию - инсулин короткого действия перед едой 3 раза в сутки и пролонгированного действия перед завтраком и перед сном. После компенсации СД, мониторирование глюкозы крови продолжали с частотой 1 раз в сутки. Все обследуемые консультированы врачом-эндокринологом в динамике, с необходимой коррекцией сахароснижающей терапии.

2. Системная антибактериальная терапия. Начальную терапию назначали эмпирически на основании клинических и эпидемиологических данных о преобладающих возбудителях, тяжести гнойно-воспалительного процесса, наличии и степени выраженности нефропатии, автономной нейропатии, данных аллергологического анамнеза, а также с учетом ранее применяемых антибактериальных препаратов и их эффективности. В большинстве случаев применяли цефалоспорины III–IV поколений

внутримышечно или внутривенно, а также фторхинолоны внутривенно. Всем пациентам при поступлении выполняли посев из раны для определения чувствительности к антибиотикам. В зависимости от результата посева проводили коррекцию антибиотикотерапии.

3. Ангиотропная и нейротропная терапия. Пациентам назначали альфа-липоевую кислоту в дозировке 600 мг, разведенную в 200 мл 0,9 % раствора натрия хлорида 1 раз в сутки внутривенно капельно в течение 2 недель с дальнейшим переходом на таблетированные формы. Для улучшения артериального кровотока вводили Вазапостан внутривенно капельно в дозе 40–60 мкг/сутки в 250 мл физиологического раствора, в течение 2 часов в течение 14 дней при отсутствии противопоказаний. Также всем пациентам проводили дезагрегантную терапию пентоксифиллином в дозировке 5 мл, разведенного в 200 мл физиологического раствора внутривенно капельно 1 раз в сутки или ацекардолом в дозировке 100 мг внутрь 1 раз в сутки. Кроме того, всем исследуемым проводили антикоагулянтную терапию эноксапарином натрия в дозировке 0,4 мл подкожно 1 раз в день, начиная с 3 суток после хирургической обработки гнойно-некротического очага.

4. У пациентов с преобладанием нейропатического компонента синдрома ДС проводили разгрузку пораженной конечности, за счет постельного режима, перемещения в пределах отделения с помощью дополнительных средств опоры: трости, костылей, перемещение с помощью кресла-каталки. При наличии раневого дефекта в дистальной части стопы пациентам рекомендовали опору на пяточную область при условии ограничения ходьбы.

5. Антиоксидантная терапия. Пациенты группы сравнения получали внутривенные инъекции этилметилгидроксипиридина сукцината в дозировке 200 мг 2 раза в день в течение всего исследования.

3.2. ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Всем пациентам в процессе госпитализации проводили оперативные вмешательства по поводу гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы. Распределение пациентов по уровню оперативного вмешательства представлено в таблице 8.

Таблица 8 – Распределение пациентов в зависимости от выполненных оперативных вмешательств

Вид оперативного вмешательства	Основная группа, <i>n</i> = 48		Группа сравнения, <i>n</i> = 48		Итого	<i>P</i>
	абс.	%	абс.	%		
Радикальная некрэктомия	32	66,7	29	60,4	61	0,7982
Ампутация пальцев стопы с резекцией головки плюсневой кости	10	20,8	14	29,2	24	0,5413
Трансметатарзальная ампутация стопы по Шарпу	6	12,5	5	10,4	11	0,4544
Всего	48	100	48	100	96	

Для выбора вида хирургической обработки гнойно-некротического очага, обследуемые были разделены на 4 группы, согласно классификации диабетических ран нижних конечностей по Wagner:

- 0 степень – интактная неповрежденная кожа;
- I степень – поверхностная язва (процесс захватывает эпидермис, дерму);
- II степень – инфекционный процесс захватывает кожу, подкожную клетчатку, мышцы;

- III степень – глубокая язва, абсцесс, остеомиелит, септический артрит
- IV степень – сухая/влажная гангрена: некроз всех слоев кожи отдельных участков стопы (например, часть пальца/палец);
- V степень – сухая/влажная гангрена части стопы/всей стопы.

В обеих группах среди всех вмешательств преобладала радикальная некрэктомия, заключающаяся в максимально возможном иссечении некротических тканей, удалении гиперкератоза при хронических ранах и язвах, а также ревизия ран на предмет наличия дополнительных затеков с вскрытием последних – 32 (66,7 %) в основной группе и 29 (60,4 %) в группе сравнения, Пациентам с гангреной пальцев стопы (IV степень по Wagner) проводили экзартикуляцию пальца с резекцией головки плюсневой кости. В основной группе данное вмешательство выполняли у 10 (20,8 %) пациентов. В группе сравнения ампутацию пальцев стопы проводили у 14 (29,2 %) пациентов.

Учитывая выраженность перифокального воспаления, а также высокого риска возникновения послеоперационных осложнений, в том числе возникновения анаэробной инфекции, закрытие операционной раны не выполняли, дальнейшее ведение раны осуществляли открыто. Еще 6 (12,5 %) пациентам основной группы и 5 (10,4 %) пациентам группы сравнения проводили трансметатарзальную ампутацию стопы по Шарпу гильотинным способом по поводу гангрены дистальной части стопы. В послеоперационном периоде осуществляли открытое ведение раны до формирования активных грануляций (рисунок 7).

По количеству выполненных вмешательств исследуемые группы сопоставимы ($p > 0,05$).



Рисунок 7 – Сформированный раневой дефект после трансметатарзальной ампутации стопы гильотинным способом

3.3. ТЕХНИКА ПРИМЕНЕНИЯ РАЗРАБОТАННОГО СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ РАН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КОЛЛАГЕНОВОГО МАТРИКСА, ИМПРЕГНИРОВАННОГО АНТИОКСИДАНТОМ

Метод активизации репаративных процессов в ранах у пациентов с синдромом диабетической стопы был разработан сотрудниками кафедры «Хирургия» Медицинского института Пензенского государственного университета (патент РФ на изобретение № 2793889 от 07.04.2023). Получено разрешение локального этического комитета медицинского института Пензенского государственного университета на применение способа в клинической практике (протокол № 5 от 28.01.2022). В условиях научно-производственного предприятия «Кардиоплант» были изготовлены гель из децеллюляризованного матрикса и внеклеточный коллагеновый матрикс в форме лиофилизированной мембраны (БДКН. 942519. 091 ТУ; патент

Российской Федерации на изобретение №2683328 от 27.06.2017; регистрационное удостоверение № РЗН 2019/8367).

После очищения раны от гнойно-некротических масс и ликвидации воспалительных явлений в зоне раневого дефекта, 48 пациентам выполняли имплантацию ВКМ.

Первым этапом проводили мацерацию грануляционной ткани скальпелем до появления «кровоной росы», далее на поверхность раны наносили коллагеновый гель из матрикса, импрегнированного этилметилгидроксипиридина сукцинатом. Гель равномерно распределяли по всей поверхности раневого дефекта. Объем наносимого геля определяли из расчета 1 мл на площадь раневой поверхности, равной 1×1 см.

Далее поверх коллагенового геля укладывали листовую форму ВКМ, марочным способом, равномерно по всей поверхности раны, размеры каждого фрагмента листовой формы определяли в зависимости от площади раневого дефекта. Фиксацию листовой формы ВКМ не проводили (рисунок 8).



Рисунок 8 – Имплантация внеклеточного матрикса в зону раневого дефекта стопы после ампутации 3,4,5 пальцев

Имплантацию завершали наложением асептической повязки.

Первую перевязку выполняли не ранее, чем на 3–5-е сутки после имплантации. На протяжении всего периода наблюдения регистрировали динамику течения раневого процесса, наличие или отсутствие местных и общих осложнений.

ГЛАВА 4

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Динамику оксидативного стресса у животных, в основных и контрольной группах изучали по следующим показателям (таблица 9). Для статистической оценки медиан в сравниваемых группах использовали критерий Краскела-Уоллиса. При $p < 0,1$ отличие считали достоверным.

Таблица 9 – Динамика показателей оксидативного стресса в сравниваемых группах

Срок/Показатель (Me)		Супероксид-дисмутаза, УЕ/мг белка	Церуллоплазмин, мг/л	Каталаза, мкат/мг	Диеновые конъюгаты, УЕ/мл	Триеновые конъюгаты, УЕ/мл
0 суток	ВКМ	Me = 0,65	Me = 379,40	Me = 22,57	Me = 0,76	Me = 0,24
	ВКМ+АО	Me = 0,64	Me = 352,85	Me = 28,32	Me = 0,68	Me = 0,28
	КГ+АО	Me = 0,62	Me = 300,09	Me = 18,22	Me = 0,57	Me = 0,24
	<i>p</i>	0,4324	0,1802	0,3285	0,2771	0,4665
7 суток	ВКМ	Me = 0,25	Me = 501,32	Me = 303,86	Me = 1,90	Me = 1,00
	ВКМ+АО	Me = 0,62	Me = 518,85	Me = 238,83	Me = 1,90	Me = 0,85
	КГ+АО	Me = 0,59	Me = 434,52	Me = 320,69	Me = 1,80	Me = 0,86
	<i>p</i>	0,0837	0,5836	0,1988	0,9810	0,4727
14 суток	ВКМ	Me = 0,18	Me = 357,68	Me = 265,59	Me = 1,99	Me = 0,76
	ВКМ+АО	Me = 0,44	Me = 394,45	Me = 190,67	Me = 1,69	Me = 0,56
	КГ+АО	Me = 0,42	Me = 338,10	Me = 162,50	Me = 1,63	Me = 0,50
	<i>p</i>	0,0592	0,0592	0,0548	0,0581	0,0308
30 суток	ВКМ	Me = 0,56	Me = 314,96	Me = 108,69	Me = 0,93	Me = 0,47
	ВКМ+АО	Me = 0,60	Me = 305,87	Me = 49,55	Me = 0,47	Me = 0,37
	КГ+АО	Me = 0,60	Me = 268,07	Me = 17,72	Me = 0,28	Me = 0,19
	<i>p</i>	0,3897	0,0210	0,0073	0,0166	0,0183

Примечание. ВКМ – внеклеточный коллагеновый матрикс; ВКМ+АО – внеклеточный коллагеновый матрикс, импрегнированный антиоксидантом, КГ+АО – коллагеновый гель из матрикса, импрегнированный антиоксидантом

Спустя 7 суток в группе животных, которым осуществляли имплантацию ВКМ отмечено уменьшение активности СОД, что свидетельствовало об инактивации фермента при процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ). В группах животных, которым выполняли имплантацию ВКМ и коллагенового геля, импрегнированных антиоксидантом, активность фермента изменилась незначительно ($p = 0,0837$), что объясняли низким расходом СОД в присутствии антиоксидантов, импрегнированных в ВКМ.

Через 14 суток после имплантации во всех сравниваемых группах отмечена минимальная концентрация СОД. Данное явление объясняли прогрессированием процессов ПОЛ, и, как следствие, невозможностью восстановления фермента в необходимой концентрации. Наиболее низкий уровень СОД отмечали в контрольной группе (минимальное значение – 0,12 УЕ/мг белка) ($p = 0,0592$). В основных группах статистически значимой разницы между значениями не выявлено.

Через 30 суток после имплантации во всех группах отмечали восстановление СОД до первоначальных значений. В основных группах отмечен более высокий темп восстановления баланса в системе ПОЛ, так как активность фермента была выше, чем в контрольной группе. Динамика активности СОД представлена на рисунке 9.

При исследовании ЦП спустя 7 суток после имплантации матрикса во всех сравниваемых группах отмечали повышение концентрации фермента, что говорило о смещении баланса в окислительно-восстановительной системе, а также об активации механизмов воспалительного ответа ($p = 0,5836$). Наиболее активное повышение ЦП наблюдали в группе, где использовали ВКМ, импрегнированный антиоксидантом, что связано с более поздним высвобождением антиоксидантного препарата из матрикса.

Через 14 суток после имплантации во всех группах отмечали постепенное восстановление окислительно-восстановительного баланса, о чем говорило

снижение показателя ЦП. При этом, максимальное значение ЦП отмечено в контрольной группе (386 мг/л), а минимальное – в группе животных, которым осуществляли имплантацию коллагенового геля из матрикса, импрегнированного антиоксидантом (317,625 мг/л). В группе, где использовали листовую форму матрикса с импрегнацией антиоксидантом уровень ЦП, в среднем был ниже, чем в контрольной группе и выше, чем в группе, где использовали коллагеновый гель (356,63 мг/л), однако среднее значение фермента в данный период исследования выше, чем в остальных группах.

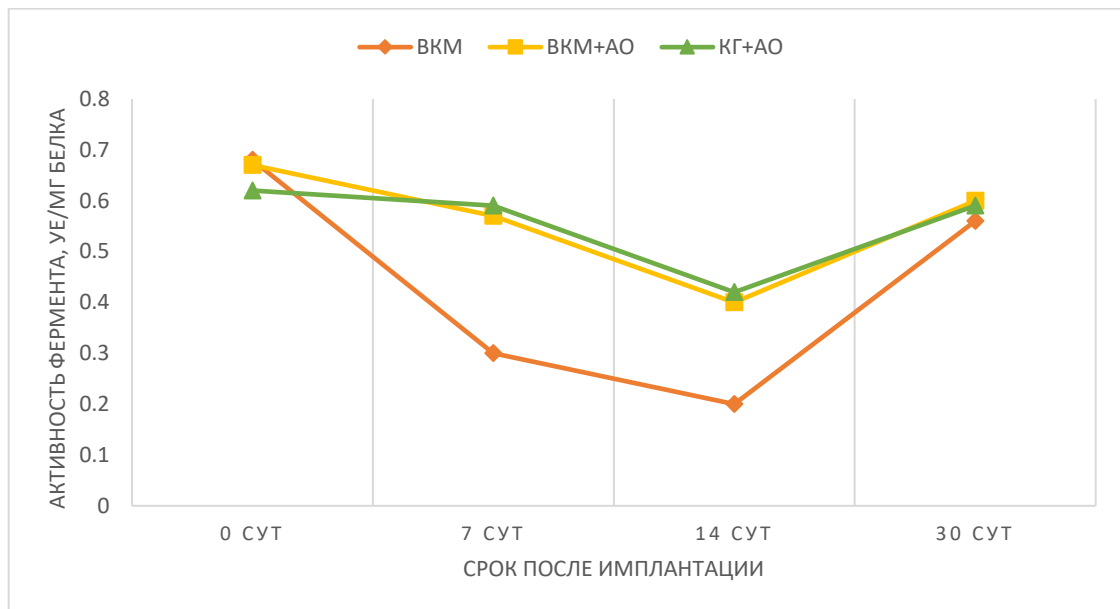


Рисунок 9 – Активность супероксиддисмутазы до имплантации внеклеточного матрикса и через 7, 14, 30 суток после имплантации внеклеточного матрикса

При дальнейшем исследовании отмечено продолжение окислительных процессов на 30-е сутки после имплантации в группах, где выполняли имплантацию листовой формы матрикса (ВКМ и ВКМ+АО), так как показатель ЦП в указанных группах снизился незначительно. В группе, где использовали коллагеновый гель из матрикса, активность фермента снизилась на 38,5 % от пиковой и приближалась к значениям до имплантации, что говорит о восстановлении баланса в системе ПОЛ ($p = 0,0210$) (рисунок 10).

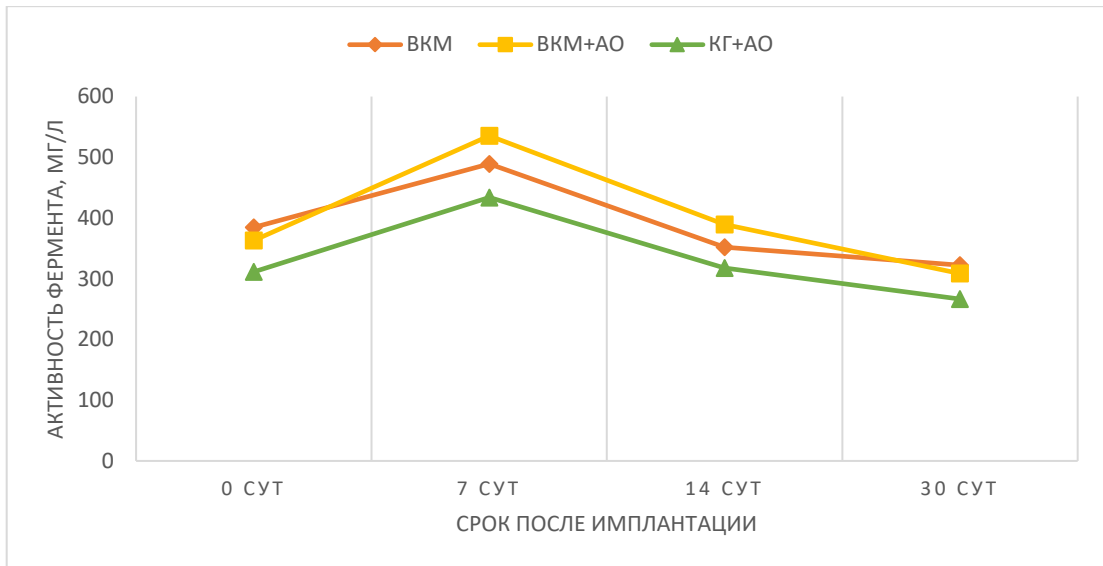


Рисунок 10 – Активность церулоплазмينا до имплантации внеклеточного матрикса и через 7, 14, 30 суток после имплантации внеклеточного матрикса

При исследовании каталазы через 7 суток во всех группах зафиксировано повышение уровня фермента, как следствие активизации процессов воспалительного ответа и ПОЛ. Наиболее выраженную активность отмечали в группе, где использовали коллагеновый гель из матрикса ($p = 0,1988$).

К 14-м суткам во всех группах отмечали уменьшение концентрации фермента и постепенное восстановление баланса в системе ПОЛ, однако в присутствии антиоксидантов данный процесс протекал активнее, причем более быстрое восстановление баланса происходило в группе, где использовали коллагеновый гель ($p = 0,0548$).

На 30-е сутки в сравниваемых группах отмечали постепенное стихание воспалительных реакций. В основных группах активность каталазы была минимальной (рисунок 11), что свидетельствовало о достижении баланса в системе ПОЛ, при этом в группе, где использовали коллагеновый гель наблюдали наиболее низкий уровень активности фермента (19 мкат/мг), что говорило о его низком расходе в условиях достижения баланса ($p = 0,0073$). Стоит отметить, что темп снижения каталазы к 30-м суткам в группе, где

использовали коллагеновый гель на 16,5 % выше, чем в группе, где использовали листовую форму матрикса ($p = 0,046$).

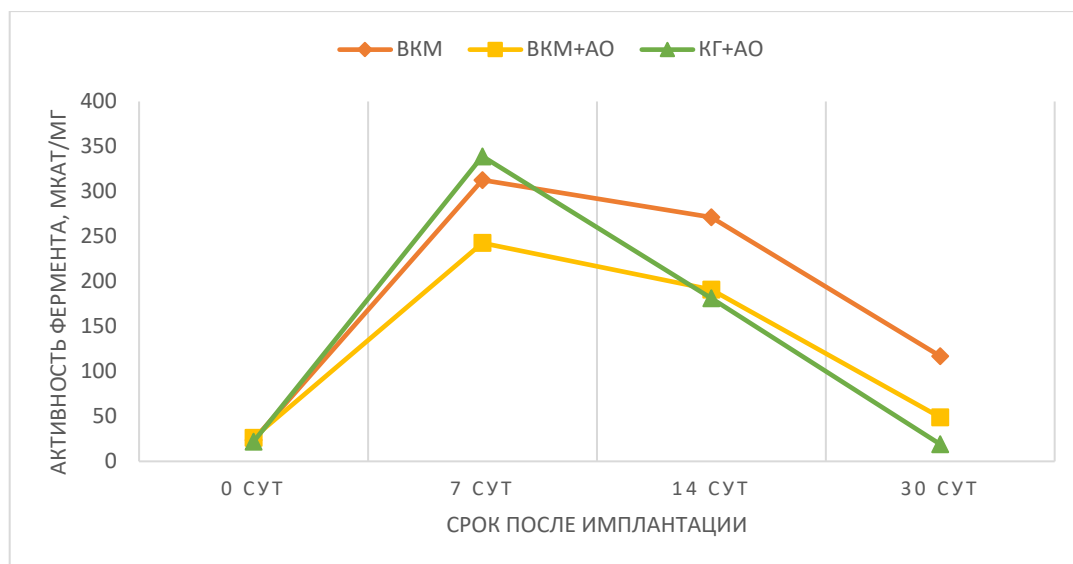


Рисунок 11 – Активность каталазы до имплантации внеклеточного матрикса и через 7, 14, 30 суток после имплантации внеклеточного матрикса

При исследовании диеновых и триеновых конъюгатов на 7-е сутки на фоне активизации воспалительных процессов и нарушении баланса в системе ПОЛ отмечали повышение уровня во всех сравниваемых группах. Диапазон значений составил 1,91–2,28 УЕ/мл ($p = 0,2771$) при исследовании ДК и 0,72–1,3 УЕ/мл при исследовании ТК ($p = 0,4665$).

Через 14 суток после имплантации в основных группах уровни ДК и ТК заметно снизились, что объясняли высвобождением антиоксидантов из матрикса. Максимальную активность ферментов наблюдали в контрольной группе, что говорило о продолжающихся процессах воспаления и ПОЛ мембран клеток.

На 30-е сутки исследования в контрольной группе окислительные процессы также преобладали над восстановительными. Уровни ДК и ТК, в данный период оставались достаточно высокими, несмотря на видимую тенденцию к снижению. В основных группах отмечали выраженное снижение

активности ферментов до значений, предшествующих стрессовому воздействию (рисунки 12, 13), причем в группе, где осуществляли аппликацию коллагенового геля показатели ДК и ТК были ниже на 56,7% и 55,3 % соответственно, что говорило о более эффективном высвобождении антиоксидантного препарата из матрикса в окружающие ткани.

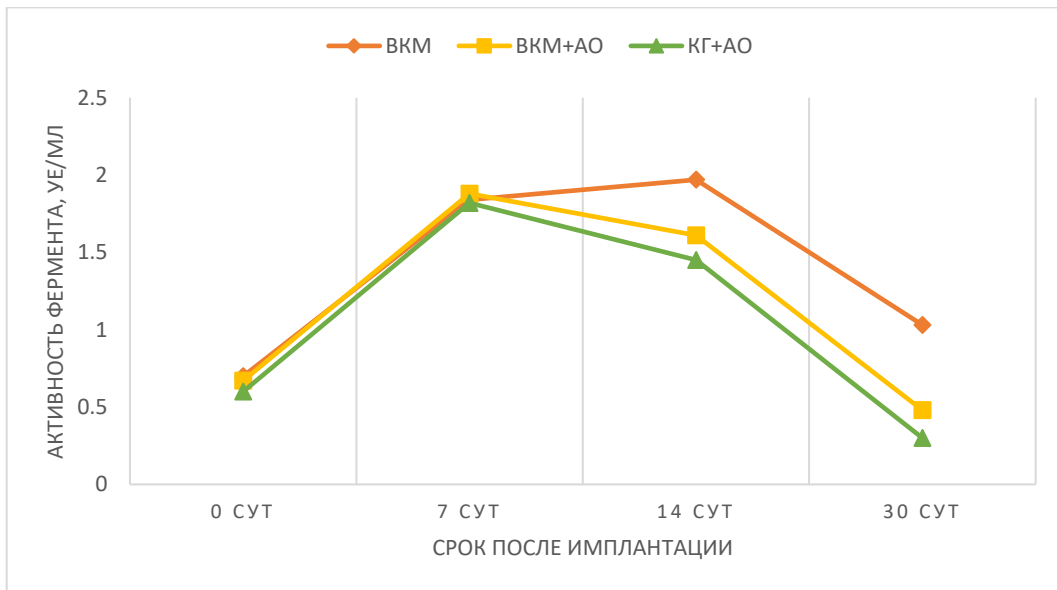


Рисунок 12 – Концентрация диеновых конъюгатов до имплантации внеклеточного матрикса и через 7, 14, 30 суток после имплантации внеклеточного матрикса

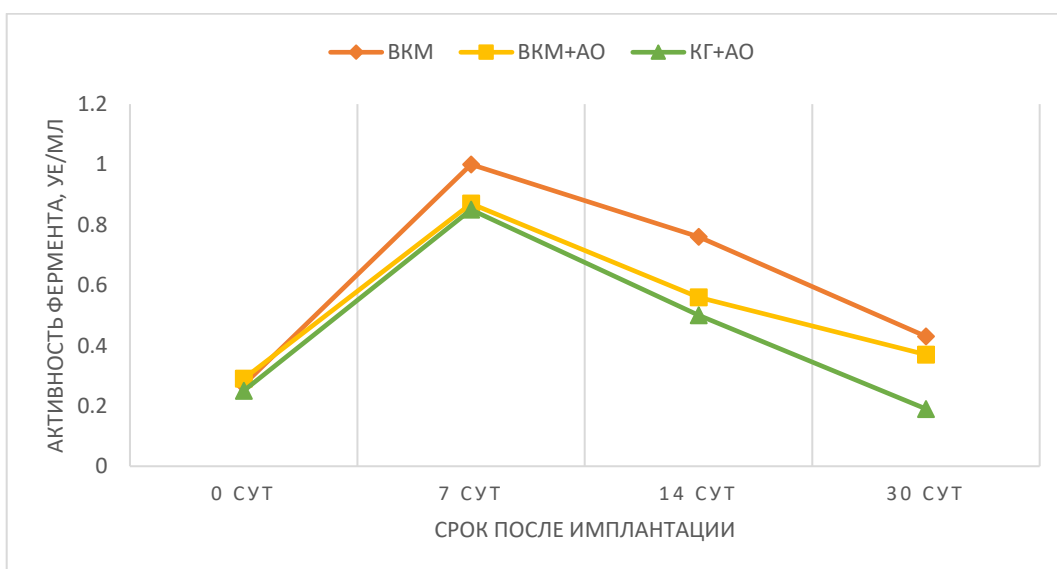


Рисунок 13 – Концентрация триеновых конъюгатов до имплантации внеклеточного матрикса и через 7, 14, 30 суток после имплантации внеклеточного матрикса

Таким образом, при использовании внеклеточного коллагенового матрикса отмечено постепенное восстановление баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты. К 30-м суткам после имплантации в основных группах наблюдали восстановление уровня исследуемых ферментов до первоначальных значений. Стоит отметить, что в присутствии антиоксидантов, импрегнированных в матрикс процесс восстановления происходил быстрее и уже, в среднем, к 14-м суткам отмечали постепенное восстановление баланса в системе ПОЛ, в то время как в контрольной группе в тот же временной промежуток явления окислительного стресса оставались достаточно выраженными. Полученные данные сходны с результатами исследователей, указывающих на необходимость применения антиоксидантов для более быстрого достижения баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты и нивелирования явлений оксидативного стресса [Олифирова О. С., Козка А. А., 2015; Maritim, A. C. et al., 2003; Pessoa A. F. et al., 2016]. Кроме того, при сравнении основных групп выявлено более быстрое достижение окислительно-восстановительного баланса у животных, которым выполняли имплантацию коллагенового геля из матрикса, что может говорить о более длительном поддержании необходимой концентрации в тканях области раневого дефекта. Следовательно, коллагеновый гель из матрикса, импрегнированный антиоксидантом, может быть использован для местного лечения длительно незаживающих ран, в том числе у пациентов с синдромом ДС.

4.2. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Для оценки результатов клинического исследования использовали следующие параметры: динамика площади раневой поверхности, показателя микроциркуляции тканей нижних конечностей, среднего квадратичного

отклонения (флаксы), а также индекса флаксмоций. Оценку вышеописанных параметров проводили на 5, 10 и 14-е сутки после имплантации ВКМ.

Клиническое исследование показало, что раневой процесс у пациентов основной группы протекал более благоприятно, чем в группе клинического сравнения (таблица 10). При оценке площади раневой поверхности в исследуемых группах статистически значимой разницы не выявлено ($p = 0,7727$). В обеих группах перед началом исследования отмечали незначительное перифокальное воспаление, обусловленное недавно перенесенной хирургической обработкой гнойно-некротического очага. Активных гнойных и некротических процессов в ранах не наблюдали. Для оценки динамики раневого процесса использовали критерий Манна-Уитни, а также бинарную логистическую регрессионную модель отношения рисков, которая отражала вероятность уменьшения площади раневой поверхности менее, чем на 50% (дискретный анализ времени до наступления события).

Таблица 10 – Динамика медиан площади раневой поверхности в сравниваемых группах

Показатель, см ² (Me)	Основная группа $n = 48$ (50 %)	Группа сравнения $n = 48$ (50 %)	p
0 суток	Me = 17,65	Me = 17,70	0,5552
5 суток	Me = 14,70	Me = 15,90	0,133
10 суток	Me = 11,00	Me = 13,25	0,0018
14 суток	Me = 7,30	Me = 9,85	0,0004

На 5-е сутки исследования клинически значимой разницы в сравниваемых группах не выявлено, что объясняли высоким уровнем окислительного стресса в клетках в зоне раневого дефекта и перифокальной зоны, а также продолжающимися воспалительными процессами ($p = 0,133$), размеры

эпителизированных участков не превышали 15 % от первоначальной площади ран в обеих группах.

На 10-е сутки в основной группе наблюдали уменьшение медианы площади раневой поверхности до 11 см², что составило до 38 % исходной площади, появление краевой эпителизации, за счет активизации репаративных процессов посредством высвобождения антиоксидантов из коллагенового геля, при этом отмечали усиление активности грануляций, ткань имела ярко-красный оттенок, что говорило о переходе раневого процесса в фазу пролиферации. В то же время, в группе сравнения репаративные процессы были слабыми или отсутствовали, уменьшение площади раневой поверхности не превышало 25 % ($p = 0,0018$), признаков, характеризующих переход раневого процесса из фазы воспаления в фазу пролиферации не было.

На 14-е сутки в обеих группах отмечены процессы краевой эпителизации с уменьшением площади раневой поверхности. В основной группе отмечено уменьшение медианы площади поверхности раны до 7,3 см², что на 57 % меньше первоначальных размеров, продолжалось активное заживление ран вторичным натяжением, тогда как в группе сравнения медиана площади раны составила 9,85 см² (41%) ($p=0,0004$), несмотря на уменьшение ран в размерах, репаративные процессы были вялыми, оттенок грануляционной ткани у различных пациентов данной группы был от ярко-красного до тусклого.

Таким образом, применение коллагенового геля из матрикса, в дополнение к стандартной многокомпонентной терапии синдрома ДС, ускоряет заживление ран в среднем, на 28 %, по сравнению с использованием только стандартной терапии. На основании проведенного исследования, а также данных литературы, можно предположить, что сам состав геля, приближенный к естественному ВКМ кожи человека позволяет стимулировать иммунную систему, активизирует гранулоциты и макрофаги, которые в свою очередь способствуют заживлению, а также осуществляют перенос из клеток факторов роста. Полученные данные сходны с результатами ряда исследований, указывающих на явное

преимущество использования фибриновых и коллагеновых гидрогелей, в активации репаративных процессов в хронических ранах, однако в своих экспериментах авторы использовали биоматериал «Коллост» [Майбородин И. В. и соавт., 2013; Дибиров М. Д. и соавт., 2016; Ступин В. А. и соавт., 2017; Максимова Н. В. и соавт., 2017]. Изменение площади раневой поверхности в обеих группах представлено на рисунке 14.

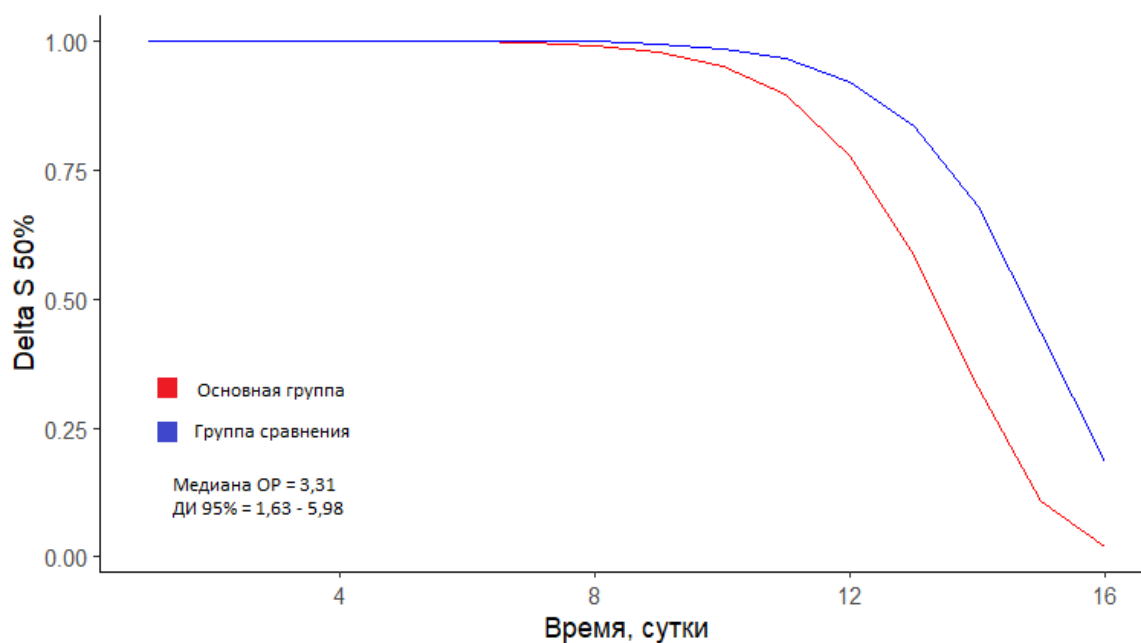


Рисунок 14 – Динамика площади раневой поверхности в сравниваемых группах

Оценка микроциркуляции тканей в зоне раневого дефекта выявила более выраженную динамику у исследуемых основной группы (таблица 11). У пациентов, страдающих нейропатической формой синдрома ДС в большинстве случаев выявлена гиперемическая форма расстройства микроциркуляции, у пациентов с ишемической и нейро-ишемической формами синдрома ДС преобладала спастико-атоническая форма расстройства микроциркуляции с реологическими нарушениями кровотока. В основной группе медиана ПМ до исследования составляла 5,34 п.е, в то же время медиана флекса – 0,59 п.е. В группе клинического сравнения до исследования медиана ПМ составила 5,33 п.е,

медиана флакса составляла 0,65 п.е. Медианы индекса флаксмоций составляли 1,43 у.е. в основной группе и 1,39 у.е. в группе сравнения ($p = 0,4373$). При статистической оценке показателей, характеризующих функционирование микроциркуляторного русла, был применен критерий Манна-Уитни. Статистически значимой разницы в сравниваемых группах не выявлено.

Таблица 11 – Оценка микроциркуляции тканей у пациентов в исследуемых группах

Значение (медиана)	Основная группа $n = 48$ (50 %)			Группа сравнения $n = 48$ (50 %)			p
	Показатель микро циркуляции, п.е.	Флакс, п.е.	Индекс флакс- моций, у.е	Показатель микро- циркуляции, п.е.	Флакс, п.е.	Индекс флакс- моций, у.е	
0 суток	Me = 5,34	Me = 0,59	Me = 1,43	Me = 5,33	Me = 0,65	Me = 1,39	0,4373
5 суток	Me = 6,47	Me = 0,72	Me = 1,68	Me = 5,86	Me = 0,59	Me = 1,41	0,0222
10 суток	Me = 7,97	Me = 0,90	Me = 1,86	Me = 6,54	Me = 0,63	Me = 1,60	0,0119
14 суток	Me = 9,15	Me = 1,36	Me = 2,44	Me = 7,39	Me = 0,72	Me = 1,92	0,0003

На 5-е сутки исследования в основной группе отмечали умеренное повышение ПМ и СКО в присутствии антиоксидантов, в тоже время в группе сравнения уровень данных значений несколько снизился или повысился незначительно, что говорило о продолжающихся окислительных процессах в зоне раневого дефекта ($p = 0,0222$). В обеих группах отмечено повышение ИФМ до 1,68 у.е. в основной группе и до 1,41 у.е. в группе сравнения.

На 10-е сутки в обеих группах отмечали повышение значения медианы ПМ до 7,97 п.е. в основной группе и 6,54 п.е. в группе сравнения, что свидетельствовало об улучшении микроциркуляции тканей на фоне восстановления баланса в системе перекисного окисления липидов в

присутствии антиоксидантов ($p = 0,0119$). Медианы флакса в обеих группах составили 0,9 п.е. и 0,63 п.е. соответственно. Отмечено повышение ИФМ до 1,86 у.е. в основной группе и 1,6 у.е. в группе сравнения.

На 14-е сутки у пациентов группы сравнения медиана ПМ составляла 7,39 п.е., что говорило о постепенном восстановлении баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты и улучшении микроциркуляции тканей в зоне раневого дефекта, в то время как в основной группе данный показатель наблюдали на уровне 9,15 п.е ($p = 0,0003$), что свидетельствовало о более активном восстановлении баланса в системе ПОЛ в присутствии антиоксидантов. Медиана ИФМ была также выше в основной группе и составила 2,44 у.е., что также говорило о более эффективной регуляции микроциркуляторного кровотока на фоне антиоксидантной терапии. Динамика показателя микроциркуляции и среднего квадратичного отклонения показателя микроциркуляции в сравниваемых группах представлены на рисунках 15, 16. Динамика индекса флаксмоций представлена на рисунке 17.

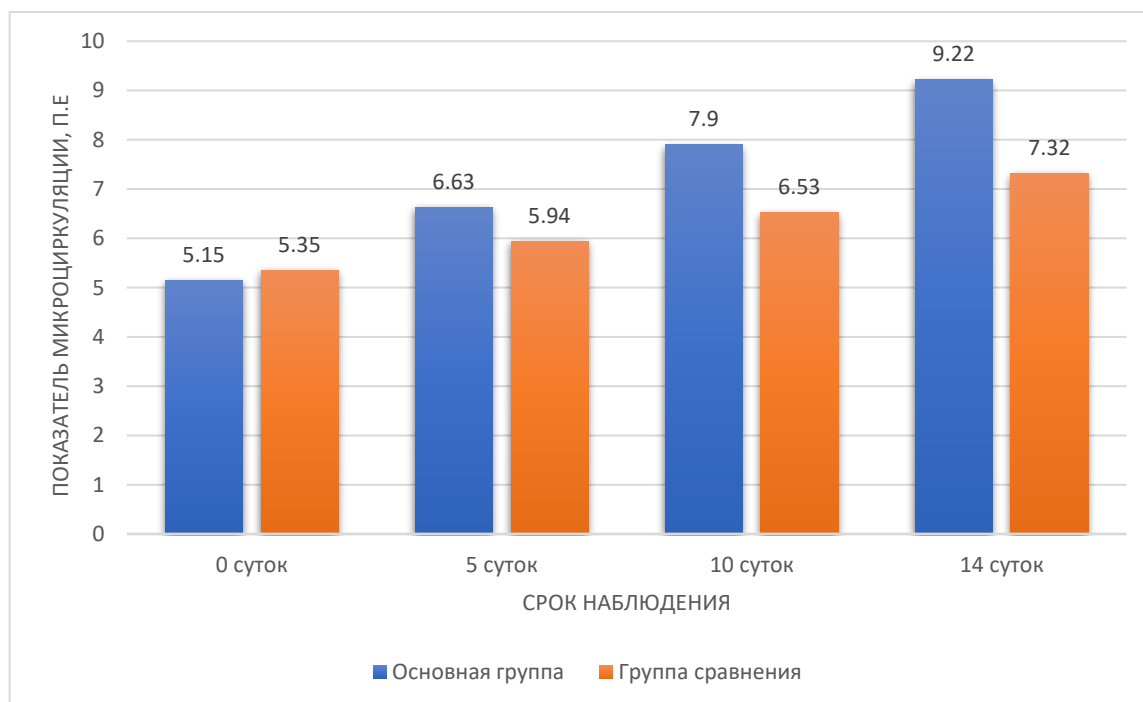


Рисунок 15 – Динамика показателя микроциркуляции в сравниваемых группах

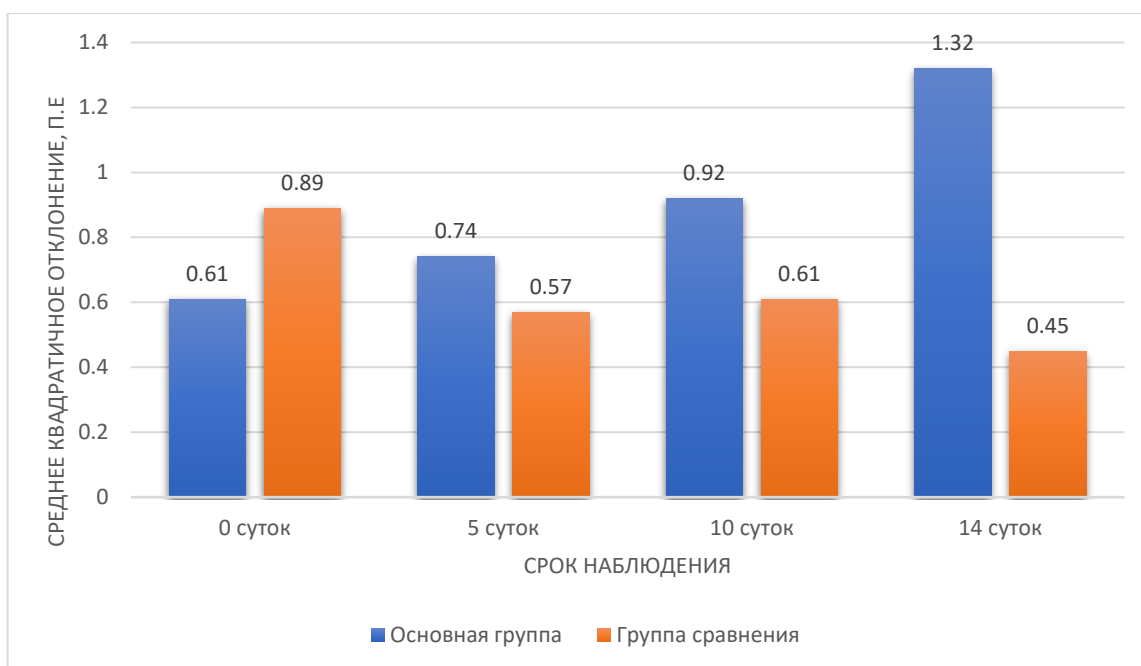


Рисунок 16 – Динамика среднего квадратичного отклонения в сравниваемых группах

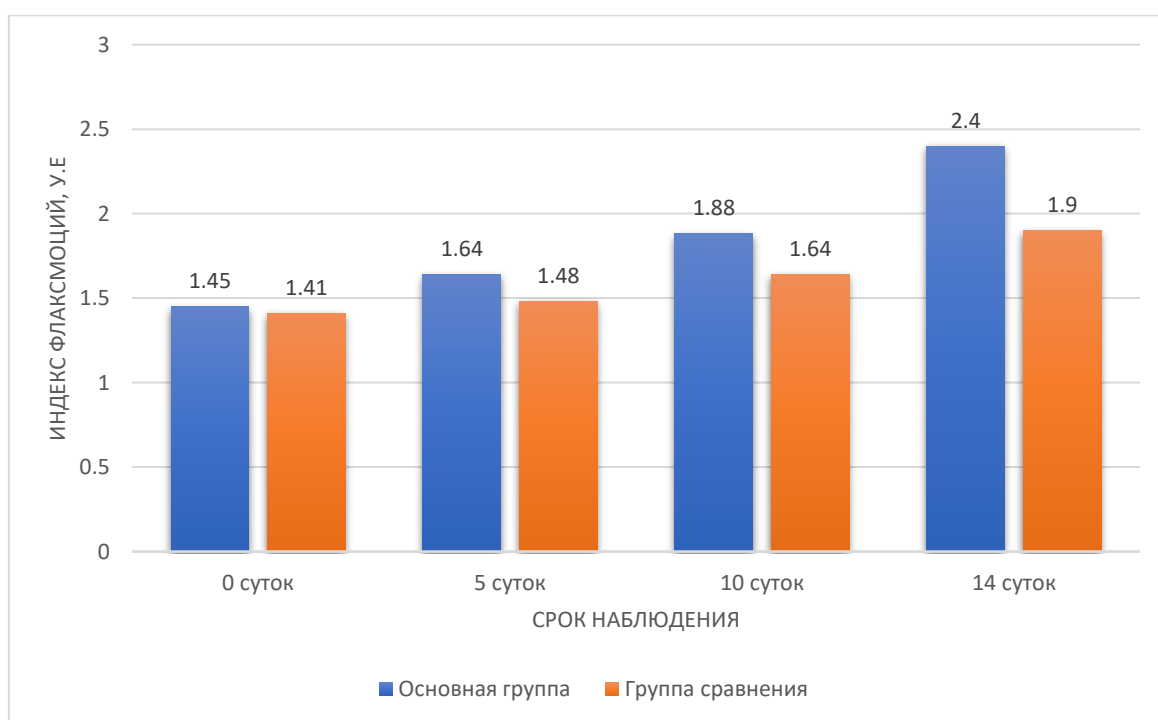


Рисунок 17 – Динамика индекса флаксмоций в сравниваемых группах

Общие осложнения, развившиеся после хирургической обработки гнойно-некротического очага в основной группе и группе сравнения, представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Общие послеоперационные осложнения

Характер осложнений	Основная группа, n = 48		Группа сравнения, n = 48	
	абс.	%	абс.	%
Кризовое течение гипертонической болезни	4	8,3	3	6,25
Тромбофлебит поверхностных вен голени	–	–	1	2,08
Гипостатическая пневмония	1	2,08	1	2,08
Острый коронарный синдром	–	–	1	2,08
Кровотечения из послеоперационных ран	2	4,16	2	4,16
Всего	7	14,54	8	16,65

У одного пациента группы сравнения (2,08 %), страдающих варикозным расширением вен нижних конечностей, развился тромбофлебит поверхностных вен голени. Пациент консультирован ангиохирургом, после чего была назначена соответствующая консервативная терапия. В дальнейшем была отмечена положительная динамика.

У одного пациента (2,08 %) основной группы и одного пациента группы сравнения (2,08 %), страдающего хронической обструктивной болезнью легких, послеоперационный период осложнился гипостатической пневмонией. Пациенты были осмотрены терапевтом и пульмонологом. На фоне комплексной антибактериальной, противовоспалительной терапии, занятий дыхательной гимнастикой, физиотерапевтического лечения наступило выздоровление.

Гипертонический криз развился в послеоперационном периоде у 4 пациентов основной группы (8,3 %) и 3 пациентов группы сравнения (6,25 %). После осмотра терапевтом была назначена гипотензивная терапия. На фоне лечения была отмечена положительная динамика, дальнейшего повышения АД не наблюдали.

У одного пациента группы сравнения (2,08 %) в первые сутки после радикальной некрэктомии развился острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST. Пациент переведен в кардиореанимацию, на фоне комплексной

анальгетической, дезагрегантной, кардиопротекторной терапии было отмечено улучшение, через 6 суток переведен обратно в отделение.

У двух пациентов основной группы (4,16 %) и двух пациентов группы сравнения (4,16 %) в первые двое суток после хирургической обработки гнойно-некротического очага развилось кровотечение из послеоперационной раны. Была назначена гемостатическая терапия, в двух случаях – прошивание кровоточащего сосуда. Рецидива кровотечения у пациентов не наблюдали.

С позиции доказательной медицины анализ не выявил достоверных различий в частоте развития общих послеоперационных осложнений у пациентов основной группы и группы сравнения (таблица 13).

Таблица 13 – Оценка общих послеоперационных осложнений с позиции доказательной медицины

Показатель эффективности вмешательства	Значение (95 % ДИ)
	Общие послеоперационные осложнения
ЧИЛ, %	14,5
ЧИК, %	16,7
СОР, %	13,7
САР, %	2,2
ЧБНЛ	45,4
ОР	0,86
ОШ	0,89
χ^2	0,079
<i>p</i>	0,7786

При оценке эффективности местного лечения по показателям доказательной медицины выявлено, что частота рецидивов в сравниваемых группах, статистически и достоверно не имеют значимых различий ($p = 0,1814$). В процессе клинического исследования у 3 пациентов основной группы на 7, 9 и 10-е сутки после имплантации (6,25 %) и у 7 пациентов группы сравнения, в промежутке от 8 до 11 суток с момента начала исследования (14,6 %) отмечали

появление зон вторичного некроза на раневых поверхностях. У 2 пациентов основной группы возникла необходимость выполнения повторных некрэктомий, еще 1 пациенту в связи с прогрессированием некротического процесса и появления признаков критической ишемии конечности выполнена ампутация нижней конечности на уровне средней трети бедра. В группе сравнения 3 пациентам выполняли повторную некрэктомию в связи с распространением некротического процесса на подошвенный апоневроз, у 2 пациентов выполнена трансметатарзальная ампутация стопы по Шарпу, 2 пациентам выполнена ампутация нижней конечности на уровне средней трети бедра (таблица 14).

Таблица 14 – Оценка результативности вмешательств с позиции доказательной медицины

Показатель эффективности вмешательства	Значение (95 % ДИ)
	Рецидив гнойно-некротического процесса
ЧИЛ, %	6,25
ЧИК, %	14,6
СОР, %	57,26
САР, %	8,4
ЧБНЛ	12
ОШ	0,39
χ^2	1,79
p	0,1814

Клинический пример: пациент А., 59 лет, история болезни 45897-2023. Поступил в отделение гнойной хирургии ГБУЗ «Клиническая больница № 6 им. Г.А. Захарьина» 17.04.2023 в плановом порядке с диагнозом: Диабетическая стопа, нейро-ишемическая форма. Wagner II. Незаживающая послеоперационная рана левой стопы. В анамнезе СД 1 типа в течение 10 лет, принимает пролонгированный инсулин в дозировке 20 единиц 2 раза в день и инсулин

короткого действия по 14 единиц 3 раза в день после приема пищи. Также пациент страдает гипертонической болезнью 2 стадии, 2 степени, риск 3. В январе 2023 г. выполнена экзартикуляция 3, 4, 5 пальцев левой стопы с резекцией головок 3, 4, 5 плюсневых костей гильотинным способом по поводу диабетической гангрены. Ведение послеоперационной раны осуществляли открытым способом в связи с выраженным перифокальным воспалением, некрозом подкожной клетчатки фасциальных элементов и мышечной ткани в зоне оперативного вмешательства. Впоследствии сформирован обширный раневой дефект. На фоне лечения воспалительные явления были ликвидированы, рана очистилась от некротических масс, отмечено появление активных грануляций.

После выписки на амбулаторное лечение самостоятельно выполнял перевязки с раствором мирамистина и гелем «Пронтосан». На фоне лечения пациент существенного улучшения не отмечал, уменьшение раны в размерах и дальнейшее заживление не наступало, отмечено потускнение грануляционной ткани, появление на поверхности раны пленки белесой окраски, почернение краев раны. Состояние при поступлении удовлетворительное, кожный покров был физиологической окраски, артериальное давление 140 и 90 мм рт.ст., частота сердечных сокращений 92 уд/мин, тоны сердца приглушены, ритмичные. Дыхание везикулярное, частота дыхательных движений 18 уд/мин. Температура тела 36,8 °С.

Локально: 3,4,5 пальцы на левой стопе отсутствовали, на месте пальцев раневой дефект, площадью 25,8 см², со скудным серозным отделяемым, покрыт тусклой грануляционной тканью, налетом фибрина, репаративные процессы в ране отсутствовали, отмечали участки краевого некроза, выраженного перифокального воспаления не было (рисунок 18).

В условиях перевязочной выполнена максимально возможная некрэктомия.



Рисунок 18 – Определение площади раневой поверхности при помощи курвиметра

При поступлении выполнена ЛДФ левой стопы, показатель микроциркуляции перед началом исследования составил 4,2 п.е., СКО – 0,93 п.е (рисунок 19). У пациента выявлен гипоемический тип микроциркуляции. ИФМ до имплантации составлял 1.4 у.е. На ультразвуковой доплерографии артерий нижних конечностей наблюдали атеросклеротически и диабетические изменения стенок сосудов, преимущественно магистральный тип кровотока, отмечено наличие стенозов тыльной артерии стопы 40–50 %, передней большеберцовой артерии 20–30 %, задней большеберцовой артерии 30–40 %, подколенной артерии – 30–40 %, глубокой артерии бедра – 10–20 %, поверхностной артерии бедра – 10–20 %, общей бедренной артерии – 20–30 %.

На рентгенографии левой стопы – состояние после ампутации 3, 4, 5 пальцев, на момент осмотра данных за остеомиелит культей соответствующих плюсневых костей не выявлено.

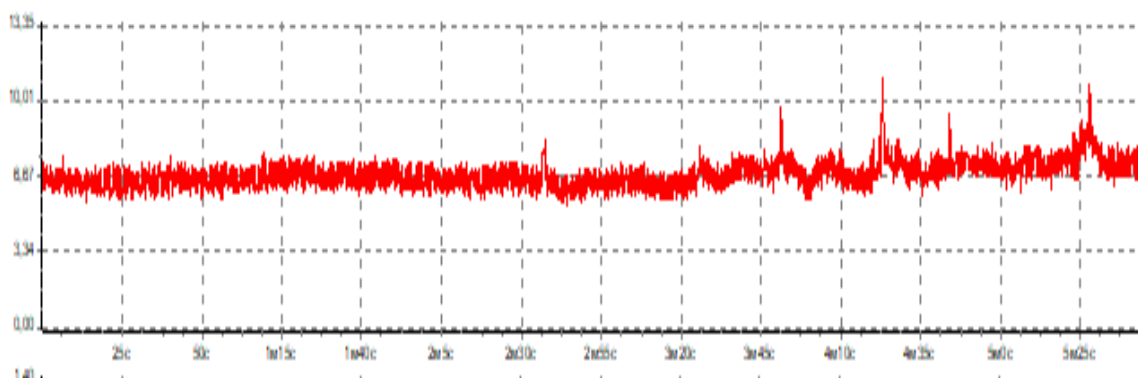


Рисунок 19 – ЛДФ-грамма пациента до имплантации

Пациенту была назначена антибактериальная терапия широкого спектра действия, антикоагулянты, дезагреганты, ежедневные перевязки с антисептиками и разгрузка пораженной конечности. Через 3 суток выполнена аппликация коллагенового геля из матрикса. После мацерации скальпелем грануляционной ткани до появления кровяной росы выполнена аппликация 5 мл коллагенового геля из матрикса, импрегнированного этилметилгидроксипиридина сукцинатом, концентрацией 50 мг/мл. Далее поверх геля марочным способом уложили 3 фрагмента листовой формы нативного матрикса, размером 2×2 см и асептическую повязку. В течение 3 суток после аппликации нижний слой повязки не удаляли, осуществляли смену только верхнего слоя.

На 5-е сутки после аппликации коллагенового геля отмечали лизис листовой формы ВКМ. В медиальном углу раны активизировался процесс краевой эпителизации (рисунок 20). Также наблюдали улучшение микроциркуляции тканей стопы, ПМ в данный период исследования составил 8,62 п.е., СКО – 0,71 п.е, ИМФ – 1,52 у.е.

На 10-е сутки процесс краевой эпителизации продолжился, грануляционная ткань приобрела более яркий оттенок, площадь раневой поверхности уменьшилась до $11,5 \text{ см}^2$ (рисунок 21), явлений перифокального воспаления и зон вторичного некроза на момент осмотра выявлено не было. Отмечено улучшение показателей, характеризующих микроциркуляторный

кровоток, ПМ в данный период исследования наблюдали на уровне 6,73 п.е., СКО – 0,99 п.е., ИФМ – 1,67 у.е.



Рисунок 20 – Вид раневого дефекта через 5 суток после имплантации



Рисунок 21 – Вид раневого дефекта через 10 суток после имплантации

Через 17 суток после аппликации коллагенового геля из матрикса наблюдали практически полное заживление раны вторичным натяжением, площадь остаточного раневого дефекта составила $0,72 \text{ см}^2$ (рисунок 22). ПМ на данном этапе исследования составил 12,35 п.е., СКО – 0,42 п.е, ИФМ – 1,84 у.е. (рисунок 23).



Рисунок 22 – Вид раневого дефекта через 17 суток после имплантации



Рисунок 23 – ЛДФ-грамма пациента через 14 суток после имплантации

Таким образом, применение ВКМ, импрегнированного антиоксидантом, позволяет уменьшить сроки заживления раны на 28 %, что обусловлено

способностью внеклеточного коллагенового матрикса транспортировать биологически активные вещества непосредственно в область раневого дефекта, а также способностью матрикса к активизации репаративных процессов за счет регулирования процессов миграции, адгезии и пролиферации клеток. Использование коллагенового геля из матрикса способствует появлению активных грануляций и краевой эпителизации за счет более быстрого высвобождения биологически активного вещества из матрикса. Отмечена компенсация микроциркуляторного русла в группе, где в качестве местного лечения использовали внеклеточный матрикс, импрегнированный антиоксидантом, за счет более быстрого восстановления баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты и, как следствие, нивелирования явлений оксидативного стресса, что совпадает с результатами исследования В.И. Козлова и соавторов (2012), которые изучали влияние комплексной терапии с применением дигидрокверцетина на микроциркуляцию тканей нижних конечностей у пациентов, страдающих хронической венозной недостаточностью. К похожим выводам пришли А.П. Власов и соавторы (2017) при исследовании репаративных процессов лапаротомной раны в условиях высокого уровня оксидативного стресса на фоне разлитого перитонита у экспериментальных животных.

Стоит отметить, что случаи рецидива некротического процесса в сравниваемых группах возникали в основном у пациентов с ишемической формой синдрома ДС и нейро-ишемической формой с преобладанием ишемического компонента и наличием большого количества сопутствующих заболеваний. Кроме того, у данных пациентов по результатам исследования микроциркуляции тканей нижней конечности отмечали слабо выраженную динамику в течение всего периода исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено открытое одноцентровое рандомизированное проспективное исследование. Для проведения исследования были использованы база Медицинского института ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (директор института и заведующий кафедрой хирургии д.м.н., профессор А. Н. Митрошин), отделения гнойной хирургии ГБУЗ «Клиническая больница № 6 им. Г. А. Захарьина», «Центра доклинических исследований» (директор центра И. В. Ефимова, ветеринарное удостоверение 258 № 0003806 от 23.12.2008, выдано ФГБОУ ВО «Пензенский государственный аграрный институт», сертификат аккредитации ООО «Технопарк «Сколково» № 001238 от 25.01.2019) и «Центра перспективных исследований инновационных лекарственных средств» Национального исследовательского Мордовского государственного университета (руководитель центра, д.м.н., доцент Н. А. Пятаев).

Данное исследование носило экспериментально-клинический характер. На проведение экспериментального исследования было получено разрешение локального этического комитета медицинского института Пензенского государственного университета (протокол № 5 от 28.01.2022). На проведение клинического исследования получено разрешение локального этического комитета медицинского института Пензенского государственного университета (протокол № 5 от 28.01.2022).

Настоящее исследование соответствует уровню достоверности доказательств 1b [Levels of Evidence. Oxford centre for evidence based medicine, 2009] на основании руководства Оксфордского центра доказательной медицины.

Экспериментальное исследование. Целью экспериментального исследования было изучение влияния внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом на репаративные процессы в ранах за счет коррекции оксидативного стресса, а также оценка эффективности

антиоксидантов, импрегнированных в различные формы внеклеточного матрикса.

Для эксперимента были выбраны листовая форма внеклеточного коллагенового матрикса и коллагеновый гель из матрикса. В качестве антиоксиданта, импрегнированного в матрикс выбран этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидол) с концентрацией 50 мг/мл.

Экспериментальную часть исследования проводили на 36 половозрелых крысах самцах линии «Wistar» массой от 200 г до 400 г. Животным основных групп на сформированную раневую поверхность в межлопаточной области осуществляли аппликацию листовой формы внеклеточного матрикса и коллагенового геля из матрикса, импрегнированных антиоксидантом. Животным контрольной группы после формирования раневого дефекта выполняли аппликацию нативного матрикса без импрегнации какими-либо препаратами.

Следующим этапом проводили биохимическую оценку сывороток крови экспериментальных животных, полученных до эксперимента, а также на 7, 14 и 30-е сутки после аппликации внеклеточного коллагенового матрикса. Для оценки динамики оксидативного стресса использовали показатели ферментов, участвующих в системе прооксиданты-антиоксиданты – супероксиддисмутазу, церуллоплазмин, каталазу, диеновые и триеновые конъюгаты.

При исследовании динамики супероксиддисмутазы отмечено восстановление уровня фермента во всех сравниваемых группах на 30-е сутки после имплантации матрикса, что говорило об установлении баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты. В присутствии антиоксидантов наблюдали снижение активности данного фермента на 64 % при использовании листовой формы матрикса и на 45 % при использовании коллагенового геля, в то время как в контрольной группе данный показатель снизился на 79 % на 14-е сутки исследования, что свидетельствовало о более быстром восстановлении баланса в системе ПОЛ в основных группах ($p = 0,5836$).

При оценке церуллоплазмина отмечали повышение уровня фермента до максимальных значений на 7-е сутки исследования, что обусловлено активными процессами перекисного окисления липидов и воспаления, однако в группе, где был использован коллагеновый гель зафиксирован наиболее низкий уровень активности, который составил 443,63 мг/л. К 30-м суткам исследования наблюдали постепенное восстановление баланса, о чем говорило снижения уровня церуллоплазмина в сравниваемых группах. В контрольной группе активность фермента на 30-е сутки снизилась на 32,3 % в то время, как в основных группах – на 37,5 % при использовании листовой формы и на 45 % при использовании коллагенового геля ($p = 0,0210$).

Оценка динамики каталазы свидетельствовала о полном восстановлении баланса в основных группах, в присутствии антиоксидантов уровень фермента на 30-е сутки был ниже на 81 % при использовании листовой формы матрикса и на 89,6 % ниже при использовании геля ($p = 0,0073$). В контрольной группе средний уровень каталазы к концу исследования оставался достаточно высоким (174,5 мкат/мг), что говорило о продолжающемся процессе перекисного окисления липидов, воспалительном ответе и, соответственно, о выраженности окислительного стресса у животных данной группы.

При исследовании диеновых и триеновых конъюгатов несмотря на максимальные уровни в основных группах на пике окислительного стресса (7-е сутки), именно в них отмечалось наиболее быстрое восстановление баланса к концу исследования, причем при использовании геля наблюдали снижение уровней данных ферментов на 56,7 % ($p=0,0166$) и 55,3 % ($p = 0,0183$) соответственно, что говорило о более интенсивном высвобождении антиоксидантов из гелевой формы матрикса.

Таким образом, в присутствии антиоксидантов отмечено более быстрое восстановление баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты, что говорило об эффективном высвобождении препарата в окружающие ткани и возможности использовать внеклеточный коллагеновый матрикс для транспортировки биологически активных веществ при невозможности их системной доставки.

Кроме того, наиболее быстрое восстановление баланса в системе перекисного окисления липидов происходило при использовании коллагенового геля из матрикса, что свидетельствовало о наибольшей эффективности данной формы матрикса для транспортировки биологически активных веществ.

Клиническое исследование. С целью улучшения результатов лечения длительно незаживающих послеоперационных ран у пациентов с синдромом диабетической стопы был разработан способ активизации репаративных процессов (патент РФ на изобретение № 2793889 от 07.04.2023). Суть предлагаемого метода заключается в том, чтобы использовать внеклеточный коллагеновый матрикс, импрегнированный антиоксидантом. Таким образом, удавалось доставить антиоксидантный препарат непосредственно в раневой очаг, минуя системный кровоток. Кроме того, сам скаффолд способствует миграции, адгезии и пролиферации клеток, что также стимулирует процессы заживления.

Лечение и оценка результатов были проведены в период с 2022 по 2024 г. Сравнительный анализ результатов лечения проводили между двумя группами пациентов, в основную группу вошли пациенты, которым осуществляли имплантацию внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом предложенным способом, в дополнение к стандартной многокомпонентной терапии раневых осложнений синдрома диабетической стопы (48 человек), в группу сравнения – пациенты, которым проводили только стандартную терапию, включая внутривенные ежедневные инъекции антиоксидантного препарата (48 человек).

Сравнительный статистический анализ свидетельствовал о том, что сформированные группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту, наличию сопутствующих заболеваний, формам синдрома диабетической стопы, и размерами раневой поверхности.

Всем обследуемым до начала лечения, а также на 5, 10 и 14-е сутки после имплантации проводили исследование микроциркуляторного кровотока тканей пораженных конечностей посредством лазерной доплеровской флоуметрии с

определением значений показателя микроциркуляции, флакса (среднего квадратичного отклонения) и индекса флаксмоций. По степени выраженности расстройств функционирования микроциркуляторного русла пациенты в сравниваемых группах также были сопоставимы ($p > 0,05$).

Сущность предлагаемого способа заключалась в аппликации коллагенового геля из матрикса, импрегнированного этилметилгидроксипиридина сукцинатом на раневую поверхность, с последующей имплантацией поверх геля листовой формы внеклеточного матрикса с целью коррекции оксидативного стресса в клетках в области раневого дефекта и перифокальной зоны и активизации репаративных процессов.

При изучении особенностей течения раневого процесса было выявлено, что у пациентов, которым осуществляли имплантацию внеклеточного матрикса, импрегнированного антиоксидантом, уменьшение раневых поверхностей в размерах, активизация грануляционной ткани и появление краевой эпителизации происходило быстрее в среднем на 28 % ($p = 0,0004$).

С позиции доказательной медицины анализ не выявил достоверных различий в частоте развития рецидивов у пациентов основной группы и группы сравнения ($p = 0,1814$). Однако абсолютный риск развития рецидивов среди пациентов, которым проводили только стандартную терапию раневых осложнений синдрома диабетической стопы, был на 8,4 % выше, чем у пациентов, которым в дополнение к стандартной терапии осуществляли имплантацию внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом.

Изучение динамики функционирования микроциркуляторного русла показало, что значение показателя микроциркуляции в основной группе было выше на 20,6 % к 14-м суткам исследования ($p = 0,0003$). Медиана ПМ в основной группе составляла 9,15 п.е., в то же время, в группе сравнения данный показатель был на уровне 7,39 п.е. Также в основной группе были выше показатели, характеризующие регуляторную функцию микроциркуляторного русла - среднее квадратичное отклонение и индекс флаксмоций на 65,9 % и 20,8 % соответственно.

Таким образом, разработанный способ активизации репаративных процессов в послеоперационных ранах позволяет сократить сроки заживления ран у пациентов с синдромом диабетической стопы за счет доставки лекарственного препарата непосредственно в раневой очаг, стимуляции пролиферативных процессов посредством имплантации внеклеточного коллагенового матрикса и компенсации функционирования микроциркуляторного русла. Данный способ относительно прост в исполнении, не сопровождается дополнительным риском и снижает вероятность возникновения рецидивов гнойно-некротических осложнений.

ВЫВОДЫ

1. В ходе экспериментального исследования выявлено, что внеклеточный коллагеновый матрикс, импрегнированный антиоксидантом, позволяет снизить выраженность оксидативного стресса и достичь баланса в системе прооксиданты-антиоксиданты. Активация репаративных процессов достигается за счет коррекции оксидативного стресса в клетках области раневой поверхности и перифокальной зоны.

2. При использовании коллагенового геля из матрикса, импрегнированного антиоксидантом, снижение уровня диеновых конъюгатов происходит на 56,7 % ($p = 0,0166$), а триеновых конъюгатов на 55,3 % ($p = 0,0183$) активнее, чем при использовании листовой формы внеклеточного коллагенового матрикса. При этом восстановление уровня антиоксидантов в группах, где используют коллагеновый гель из матрикса, происходит на 16,5 % активнее ($p = 0,046$), чем при использовании листовой формы, за счет более быстрого высвобождения препарата из матрикса и поддержании необходимой концентрации в тканях области раневого дефекта.

3. Разработанный способ активизации репаративных процессов у пациентов с длительно незаживающими ранами, после оперативных вмешательств по поводу гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы, позволяет доставить антиоксидантный препарат непосредственно в раневой очаг, минуя системный кровоток, что значительно повышает биодоступность медикамента.

4. Применение внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом, в дополнение к стандартной терапии раневых осложнений синдрома диабетической стопы, позволяет улучшить показатель микроциркуляции на 20,6 %. Использование данного способа также улучшает показатели, отражающие регуляцию микроциркуляторного кровотока на 65,9 % флакс и на 20,8 % индекс флаксмоций ($p = 0,0003$).

5. Имплантация внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом, позволила снизить риск возникновения рецидивов гнойно-некротических процессов на 8,4 %. Уменьшение площади раневой поверхности происходит на 28 % быстрее при использовании внеклеточного коллагенового матрикса в дополнение к стандартной терапии ($p = 0,0004$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При лечении длительно незаживающих ран у пациентов с синдромом диабетической стопы целесообразно использовать гелевую форму внеклеточного коллагенового матрикса, импрегнированного антиоксидантом, что позволяет нивелировать явления оксидативного стресса в зоне раневого дефекта, активизировать репаративные процессы в ране и значительно уменьшить сроки заживления.

2. Для профилактики присыхания геля к повязке непосредственно после аппликации необходимо укрывать раневой дефект листовой формой внеклеточного коллагенового матрикса. При этом фиксацию листовой формы матрикса проводить не целесообразно.

3. После выполнения имплантации матрикса перевязку следует выполнять не ранее чем через 3–5 суток при отсутствии выраженных воспалительных явлений.

4. Разработанный способ может быть рекомендован к использованию как для лечения длительно незаживающих послеоперационных ран нижних конечностей, так и для лечения хронических язв нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

СД – сахарный диабет

ДС – диабетическая стопа

ВКМ – внеклеточный коллагеновый матрикс

ВКМ+АО – внеклеточный коллагеновый матрикс + антиоксидант

КГ+АО – коллагеновый гель из матрикса + антиоксидант

ДИ – доверительный интервал

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ОР – относительный риск

ОШ – отношение шансов

ПАП – повышение абсолютной пользы

САР – снижение абсолютного риска

СОР – снижение относительного риска

ЧБНЛ – число больных, которых необходимо лечить определенным методом

ЧИК – частота исходов в контрольной группе

ЧИЛ – частота исходов в группе лечения

СРР – свободнорадикальные реакции

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СОД – супероксиддисмутаза

ЦП – церуллоплазмин

ТК – триеновые конъюгаты

ДК – диеновые конъюгаты

ПМ – показатель микроциркуляции

СКО – среднее квадратичное отклонение (флакс)

ИФМ – индекс флаксмоций

ФМС – феназинметасульфат

НСТ – нитросиний тетразолий

НАД-Н – никотинамидадениндинуклеотид

ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия

ИРП - индивидуальная разгрузочная повязка

НАДФ-Н – никотинамидадениндинуклеотидфосфат

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айрапетов, Г. А. Метод замещения костно-хрящевых дефектов крупных суставов (отдаленные результаты экспериментальной работы) / Г. А. Айрапетов // Уральский медицинский журнал. – 2019. – № 5 (173). – С. 156–160.
2. Алиева, К. А. Этиология и патогенез оксидативного стресса / К. А. Алиева, Л. Э. Азматова, Л. В. Сивакова // Международный студенческий научный вестник. – 2023. – № 3. – С. 9. – doi: 10.17513/msnv.21308. – EDN: ZDMEEF
3. Анциферов, М. Б. Синдром диабетической стопы: диагностика, лечение и профилактика / М. Б. Анциферов, Е. Ю. Комелягина. – Москва : Медицинское информационное агентство, 2013. – 304 с.
4. Аралова, М. В. Способ лечения гнойно-некротических поражений стоп у больных ишемической формой синдрома диабетической стопы : патент № 2805258 С1 Российская Федерация, МПК А61М 25/10, А61М 5/00, А61К 8/22 / Аралова М. В., Алимкина Ю. Н. – № 2022127238 ; заявл. 18.10.2022 ; опубл. 13.10.2023. – EDN: BAXNGS
5. Архипова, А. Ю. Биорезорбируемые скаффолды на основе фиброина шелка для тканевой инженерии и регенеративной медицины : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук : 03.03.04 / Архипова Анастасия Юрьевна ; ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова. – Москва, 2016. – 161 с.
6. Балаболкин, М. И. Патогенез и механизмы развития ангиопатий при сахарном диабете / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Креминская // Кардиология. – 2000. – № 10. – С. 74–87.

7. Бархатов, И. В. Оценка системы микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии / И. В. Бархатов // Клиническая медицина. – 2013. – № 11. – С. 21–27.
8. Бахарев, И. В. Синдром диабетической стопы: диагностика, лечение, профилактика, качество жизни / И. В. Бахарев, Ю. А. Редькин // Медицина. – 2003. – № 1. – С. 35–38.
9. Белик, Б. М. Комплексное лечение больных с гнойно-некротическими осложнениями при нейропатической форме синдрома диабетической стопы / Б. М. Белик, И. П. Чумбуридзе, М. Ю. Штильман, О. А. Явруян, Ю. П. Савченко // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2020. – № 4. – С. 81–87.
10. Белозерцева, Ю. П. Опыт лечения гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы с применением оригинальной хирургической методики на фоне целенаправленной антибиотикотерапии / Ю. П. Белозерцева, П. П. Курлаев, В. К. Есипов, В. А. Гриценко // Креативная хирургия и онкология. – 2014. – № 3 – С. 67–70.
11. Белозерцева, Ю. П. Совершенствование этиотропной терапии гнойно-некротических осложнений и прогнозирование течения послеоперационного периода у больных с синдромом диабетической стопы нейропатической и нейроишемической форм : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 14.01.17 / Белозерцева Юлия Петровна. – Оренбург, 2021. – 24 с.
12. Беляев, А. Н. Особенности течения гнойно-некротических поражений у больных с COVID-19 / А. Н. Беляев, И. С. Полькина // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2021. – № 3. – С. 19–26. – doi: 10.34014/2227-1848-2021-3-19-26 EDN: FGINFH
13. Бенсман, В. М. Хирургия гнойно-некротических осложнений диабетической стопы : руководство для врачей / В. М. Бенсман. – 2-е издание переработанное и дополненное. – Москва : Медпрактика, 2015. – 496 с.

14. Биниенко, М. А. Использование дермального эквивалента в комплексном лечении больных с синдромом диабетической стопы : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 14.01.17 / Биниенко Михаил Анатольевич ; ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Санкт-Петербург, 2020. – 105 с.

15. Боброва, М. М. Разработка и исследование скаффолдов на основе децеллюляризованной ткани печени для биоинженерных конструкций: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук : 14.01.24 / Боброва Мария Михайловна ; ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В. И. Шумакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва, 2019. – 146 с.

16. Богдан, В. Г. Выбор внеклеточной матрицы многокомпонентного биологического трансплантата с мезенхимальными стволовыми клетками из жировой ткани для пластики обширных дефектов передней брюшной стенки / В. Г. Богдан, М. М. Зафранская, Ю. М. Гаин // Военная медицина. – 2014. – № 1 (30). – С. 88–93.

17. Валиева, Г. Р. Совершенствование комплексного подхода к хирургическому лечению гнойных поражений нижних конечностей при сахарном диабете : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 14.01.17 / Валиева Гульназ Рафитовна. – Уфа. – 2017. – 160 с.

18. Власов, А. П. Расстройства трофики тканей регенерирующих структур в отягощенных условиях / А. П. Власов, П. П. Зайцев, П. А. Власов, В. А. Болотских, С. В. Кононенко, И. А. Кренделев, В. С. Гераськин // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 1. – С. 61. – EDN: XXNCIZ

19. Габитов, Р. Б. Эффективность местного применения коллагенового биоматериала в лечении хронических ран при синдроме диабетической стопы /

Р. Б. Габитов // Современные достижения молодых ученых в медицине 2019 : сборник материалов VI Республиканской научно-практической конференции с международным участием (Гродно, 29 ноября 2019 г.). – Гродно : Гродненский государственный медицинский университет, 2019. – С. 40–44. – EDN: DZHSVD

20. Гайворонский, И. В. Нормальная анатомия человека / И. В. Гайворонский. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2013. – Т. 1. – 561 с.

21. Галстян, Г. Р. Организация помощи больным с синдромом диабетической стопы в Российской Федерации / Г. Р. Галстян, И. И. Дедов // Сахарный диабет. – 2009. – № 1. – С. 4–7.

22. Галстян, Г. Р. Клинико-экономический анализ применения препарата эпидермального фактора роста (эберпрот-п) у больных с синдромом диабетической стопы / Г. Р. Галстян, В. И. Игнатъева, М. В. Авксентьева, И. И. Дедов // Эндокринная хирургия. – 2013. – № 1. – С. 4–15.

23. Глазков, А. А. Лазерная доплеровская флоуметрия в персонализированной оценке нарушений кожной микроциркуляции : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 03.03.01 / Глазков Алексей Андреевич ; ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва, 2020. – 115 с.

24. Горбунов, Н. В. Анализ ионофоретических проб в оценке микрососудистой реактивности у курящих студентов-медиков / Н. В. Горбунов, О. С. Полунина, А. Г. Сердюков, Л. П. Воронина // Астраханский медицинский журнал. – 2012. – № 7 (3). – С. 60–63.

25. Горюнов, С. В. Факторы, влияющие на выбор органосохраняющих реконструктивно-восстановительных вмешательств у больных с синдромом диабетической стопы / С. В. Горюнов, А. И. Привиденцев, Н. Е. Мантурова, В. А. Ступин // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2021. – № 2. – С. 48–55. – doi: 10.17116/plast.hirurgia202102148 EDN: MJQRQZ

26. Груздев, Н. Н. Эндоваскулярное лечение пациентов с хронической ишемией, угрожающей потерей конечности (ХИУПК). Отдаленные результаты /

Н. Н. Груздев, А. Г. Орлов, А. В. Антропов, А. В. Атмадзас, К. А. Атмадзас, А. Г. Борисов, А. Н. Липин, Р. С. Соболев, З. М. Танкаева, Я. П. Эминов // Современные лечебно-диагностические технологии в хирургии и интенсивной терапии : III межрегиональная научно-практическая конференция, посвященная памяти С. В. Каткова (г. Саранск, 15 сентября 2023 г.). – Саранск : Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва, 2023. – С. 126–128. – EDN: NXQWAA

27. Дедов, И. И. Результаты реализации подпрограммы «Сахарный диабет» федеральной целевой программы «Предупреждение и борьба с социально значимыми заболеваниями 2007–2012 годы» / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, Ю. И. Сунцов, В. А. Петеркова, Г. Р. Галстян, А. Ю. Майоров, Т. Л. Кураева, О. Ю. Сухарева // Сахарный диабет. – 2013. – № 16 (2S). – С. 46–48.

28. Дедов, И. И. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. 11-й выпуск / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, А. Ю. Майоров, Н. Г. Мокрышева, Е. Н. Андреева, О. Б. Безлепкина, В. А. Петеркова, Е. В. Артемова, П. С. Бардюгов, Д. Д. Бешлиева, О. Н. Бондаренко, Ф. Ф. Бурумкулова, О. К. Викулова, Н. Н. Волеводз, Г. Р. Галстян, И. С. Гомова, О. Р. Григорян, З. Н. Джемиллова, Л. И. Ибрагимова, В. Ю. Калашников, И. В. Кононенко, Т. Л. Кураева, Д. Н. Лаптев, Д. В. Липатов, О. Г. Мельникова, М. С. Михина, М. С. Мичурова, О. Г. Мотовилин, Т. В. Никонова, Р. В. Роживанов, О. М. Смирнова, Е. Г. Старостина, Е. В. Суркова, О. Ю. Сухарева, А. В. Тиселько, А. Ю. Токмакова, М. Ш. Шамхалова, Е. А. Шестакова, И. Я. Ярек-Мартынова, М. В. Ярославцева ; под редакцией И. И. Дедова, М. В. Шестаковой, А. Ю. Майорова // Сахарный диабет. – 2023. – Т. 26, № S2. – С. 1–157. – doi: 10.14341/DM13042 EDN: DCKLCI

29. Дедов, И. И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике (пленарная лекция) / И. И. Дедов // Сахарный диабет. – 2010. – № 3. – С. 6–13.

30. Демьяненко, И. А. Антиоксидант skq1, нацеленный на митохондрии, улучшает заживление кожных ран у мышей с генетическим диабетом / И. А. Демьяненко, В. В. Захарова, О. П. Ильинская, Т. В. Васильева, А. В. Федоров, В. Н. Манских, О. Ю. Плетюшкина, Б. В. Черняк, В. П. Скулачев, Е. Н. Попова // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 6408278.

31. Дибиров, М. Д. Анализ клинического применения эпидермального фактора роста эберпрот-п и биопластического материала коллост в лечении дефектов кожи и мягких тканей у больных с синдромом диабетической стопы / М. Д. Дибиров, Р. У. Гаджимурадов, К. А. Корейба // *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова.* – 2016. – № 3. – С. 59–63.

32. Долгалев, А. А. Изучение биосовместимости внеклеточного вспененного коллагенового матрикса в условиях ортотопической имплантации на IN VIVO / А. А. Долгалев, А. А. Айрапетян // *Современные методы диагностики, лечения, и профилактики стоматологических заболеваний: к 25-летию общественной организации «Стоматологическая Ассоциация Ставропольского края» (г. Ставрополь, 05–06 апреля 2018 г.).* – Ставрополь : Ставропольский государственный медицинский университет, 2018. – С. 263–264.

33. Долгалев, А. А. Исследование биосовместимости материала на основе подслизистой оболочки тонкой кишки в тестах *in vitro* и *in vivo* / А. А. Долгалев, А. А. Венедиктов, Д. В. Бобрышев, А. Д. Кручинина, А. А. Чагаров, Я. В. Евстратова, А. И. Звягина, К. С. Краснов, И. С. Фадеева, Г. А. Айрапетов // *Гены и Клетки.* – 2019. – Т. 14, № 2. – С. 47–51. – doi: 10.23868/201906018 EDN: HUHADO

34. Евдокимов, С. В. Способ изготовления 3D коллагенового матрикса : патент № 2683328 С2 Российская Федерация, МПК А61К 38/39, А61Р 41/00 / Евдокимов С. В., Венедиктов А. А., Гурин М. В., Юдичева Ю. А., Шадрин Д. В. ; заявитель Общество с ограниченной ответственностью "КАРДИОПЛАНТ". – № 2017122768 ; заявл. 27.06.2017 ; опубл. 28.03.2019. – EDN: IGRLPA

35. Егорихина, М. Н. Скаффолд для замещения дефектов кожи / М. Н. Егорихина, Д. Я. Алейник, Г. Я. Левин, И. Н. Чарыкова, Л. Н. Соснина, Д. В. Давыденко // Гены и Клетки. – 2017. – Т. 12, № 3. – С. 88–89.

36. Егорихина, М. Н. Способ создания биорезорбируемого клеточного скаффолда на основе фибрина плазмы крови : патент RU 2 653 434 С1. Российская Федерация / Егорихина М. Н., Левин Г. Я., Чарыкова И. Н., Алейник Д. Я., Соснина Л. Н. – № 2017112424 ; заявл. 11.04.2017 ; опубл. 05.08.2018.

37. Егорихина, М. Н., Скаффолды как системы доставки биологически активных и лекарственных веществ / М. Н. Егорихина, П. А. Мухина, И. И. Бронникова // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2020. – № 9 (1). – С. 92–102. – doi: 10.17802/2306-1278-2020-9-1-92-102

38. Еремеев, А. В. Функции культивируемых эмбриональных клеток на коллаген-хитозановой матрице / А. В. Еремеев, А. В. Светлаков, И. Н. Большаков, А. А. Власов, В. А. Арапова // Гены и Клетки. – 2009. – № 2. – С. 55–62.

39. Жолдошбеков, Е. Ж. Опыт лечения длительно незаживающих ран у больных синдромом диабетической стопы / Е. Ж. Жолдошбеков, Т. И. Чаканов // Молодой ученый. – 2016. – № 23 (127). – С. 140–142.

40. Золотухин, О. В. Анализ эффективности прямой эндолимфатической озонотерапии у пациентов с синдромом диабетической стопы / О. В. Золотухин, М. В. Аралова, А. А. Глухов, Ю. Н. Алимкина // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2023. – Т. 16, № 1 (58). – С. 27–32. – doi: 10.18499/2070-478X-2023-16-1-27-32 EDN: EPLIQT

41. Иванов, А. Н. Влияние биосовместимости скаффолдов из поликапролактона и ватерита на динамику маркеров ремоделирования костной ткани / А. Н. Иванов, Ю. А. Чибрикова, И. А. Норкин // Вестник новых медицинских технологий. – 2020. – № 27 (4). – С. 55–59.

42. Исаева, Е. В. Децеллюляризованный внеклеточный матрикс для тканевой инженерии (обзор) / Е. В. Исаева, Е. Е. Бекетов, Н. В. Аргучинская,

С. А. Иванов, П. В. Шегай, А. Д. Каприн // Современные технологии в медицине. – 2022. – Т. 14, № 3. – С. 57–69. – doi: 10.17691/stm2022.14.3.07 EDN: ZXIYSU

43. Исламов, Р. А. Методология эксперимента с использованием лабораторных животных / Р. А. Исламов // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2016. – № 1. – С. 522–525.

44. Исхаков, Р. Б. Возможности улучшения результатов оказания медицинской помощи больным язвенно-некротическими формами трофических расстройств на стопах при сахарном диабете, осложненном синдромом диабетической стопы, и венозной недостаточности нижних конечностей : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 14.01.17 / Исхаков Ренат Борисович ; ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Санкт-Петербург, 2021. – 195 с.

45. Кириллова, К. А. Лазерная доплеровская флоуметрия как новый способ исследования кожной микроциркуляции в околоушной области у больных с аномалиями и деформациями наружного уха / К. А. Кириллова // Молодой ученый. – 2011. – № 2 (2). – С. 157–160.

46. Кисляков, В. А. Синдром диабетической стопы / В. А. Кисляков. – Астрахань : Волга, 2008. – 212 с.

47. Кисляков, В. А. Синдром диабетической стопы: комплексный подход к лечению / В. А. Кисляков, В. Н. Оболенский, И. А. Юсупов // РМЖ. – 2015. – № 12. – С. 768–770.

48. Кит, О. И. Применение биосовместимых композитных структур (скаффолдов) в онкологии / О. И. Кит, А. Ю. Максимов, И. А. Новикова, А. С. Гончарова, Е. А. Лукбанова, А. О. Ситковская, В. Г. Воловик, С. В. Чапек // Сибирский онкологический журнал. – 2022. – Т. 21, № 1. – С. 130–136.

49. Клинические рекомендации «Сахарный диабет 2 типа у взрослых». – Москва : Общественная организация «Российская ассоциация эндокринологов», 2022. – 228 с.

50. Клинические рекомендации «Синдром диабетической стопы». – Москва : Общественная организация «Российская ассоциация эндокринологов», «Московская ассоциация хирургов», 2015. – 46 с.

51. Козлов, В. И. Биофизические принципы лазерной доплеровской флоуметрии / В. И. Козлов, Л. В. Корси, В. Г. Соколов // Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике : материалы второго Всероссийского симпозиума. – Москва, 1998. – С. 17–24.

52. Козлов, В. И. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови / В. И. Козлов, Г. А. Азизов, О. А. Гурова, Ф. Б. Литвин. – Москва, 2012. – 32 с.

53. Кокорев, О. В. Особенности использования пористо-проницаемых инкубаторов из никелида титана в качестве носителей клеточных культур поджелудочной железы / О. В. Кокорев, В. Н. Ходоренко, С. Г. Анисеев, Г. Ц. Дамбаев, В. Э. Гюнтер // Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – № 1. – С. 47.

54. Колб, В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – 2-е издание, переработанное и дополненное. – Минск : Беларусь, 1982. – 366 с.

55. Корейба, А. К. Схемы инфузионной терапии в комплексном лечении синдрома диабетической стопы / А. К. Корейба, А. Р. Минабутдинов, А. В. Шарафутдинов, Р. И. Фатыхов // Вестник современной клинической медицины. – 2014. – Т. 7, №. 5. – С. 29–31.

56. Котельников, Г. П. Доказательная медицина. Научно обоснованная медицинская практика : монография / Г. П. Котельников, А. С. Шпигель. – 2-е издание переработанное и дополненное. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 242 с.

57. Кривошеков, Е. П. Применение биопластического материала при хронических ранах стопы на фоне сахарного диабета / Е. П. Кривошеков, Е. Б. Ельшин, Г. С. Аляпышев, А. В. Посеряев // Вестник медицинского

института "РЕАВИЗ": реабилитация, врач и здоровье. – 2021. – № 6 (54). – С. 61–70. – doi: 10.20340/vmi-rvz.2021.6.CLIN.2 EDN: GXIILN

58. Кручинина, А. Д. Внеклеточный коллагеновый матрикс как материал для регенеративной медицины / А. Д. Кручинина, А. А. Венедиктов // Гены и Клетки. – 2017. – Т. 12, № 3. – С. 137.

59. Кузнецов, Ю. Л. Оптическая диагностика сосудистых реакций, вызываемых слабыми аллергенами, методом лазерной спекл-контрастной визуализации / Ю. Л. Кузнецов, В. В. Кальченко, Н. Г. Астафьева, И. В. Меглинский // Квантовая электроника. – 2014. – Т. 44, № 8. – С. 713–718.

60. Курлаев, П. П. Новый подход к выбору антибактериальной терапии гнойных осложнений синдрома диабетической стопы / П. П. Курлаев, В. А. Гриценко, Ю. П. Белозерцева // Оренбургский медицинский вестник. – 2019. – Т. 7, № 4 (28). – С. 24–29.

61. Лапитан, Д. Г. Функциональные исследования системы микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии в клинической медицине: проблемы и перспективы / Д. Г. Лапитан, Д. А. Рогаткин // Альманах клинической медицины. – 2016. – Т. 44, № 2. – С. 249–259.

62. Луцевич, О. Э. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран / О. Э. Луцевич, О. Б. Тамразова, А. Ю. Шикунова, А. С. Плешков, Г. И.-О. Исмаилов, Ю. В. Воротилов, П. И. Толстых // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2011. – № 5. – С. 72–77.

63. Майборodin, И. В. Морфологические изменения тканей после имплантации биodeградируемого материала на основе коллагена / И. В. Майборodin, Е. А. Береговой, А. И. Шевела, И. В. Кузнецова, М. И. Баранник, А. А. Манаев, В. И. Майбородина // Морфология. – 2013. – № 144 (6). – С. 63–68.

64. Максимова, Н. В. Оценка клинико-экономической эффективности применения биопластического материала Коллост в лечении пациентов с синдромом диабетической стопы / Н. В. Максимова, Ю. А. Крстич,

В. А. Ступин // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2017. – № 1 (27). – С. 59–66. – EDN: YKKWTJ

65. Матюшин, Б. Н. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении / Б. Н. Матюшин, А. С. Логинов, В. Д. Ткачев // Лабораторное дело. – 1991. – № 7. – С. 16–19.

66. Мелешина, А. В. Тканеинженерные конструкты кожи и использование стволовых клеток для создания кожных эквивалентов (обзор) / А. В. Мелешина, А. С. Быстрова, О. С. Роговая, Е. А. Воротеляк, А. В. Васильев, Е. В. Загайнова // Современные технологии медицины – 2017. – № 1. – С. 198–220.

67. Мизева, И. А. Пространственно-временной анализ колебаний кровотока в микроциркуляторном русле человека по данным оптических и термометрических измерений : диссертация на соискание ученой степени доктора физико-математических наук : 1.5.2 / Мизева Ирина Андреевна ; Институт механики сплошных сред УРО РАН – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук. – Пермь, 2022. – 328 с.

68. Митрошин, А. Н. Современные представления о применении скаффолдов в регенеративной медицине (обзор литературы) / А. Н. Митрошин, М. Г. Федорова, И. В. Латынова, А. А. Нефедов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2019. – № 2 (50). – С. 133–143. – doi: 10.21685/2072-3032-2019-2-12

69. Митякина, О. С. Исследование кальцификации материала на основе подслизистой тонкой кишки *in vitro* / О. С. Митякина, А. Г. Бражникова, И. В. Орлова, Е. В. Баканова, А. Д. Кручинина, А. А. Венедиктов // Вестник Пензенского государственного университета. – 2016. – № 2 (14). – С. 86–90.

70. Михайлов, А. Ю. Способ лечения нейроишемической формы синдрома диабетической стопы : патент № 2754415 С1 Российская Федерация,

МПК А61К 35/19, А61Р 19/00 / Михайлов А. Ю., Халимов Э. В., Стяжкина С. Н., Васильев А. Д., Капустин Б. Б. ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ижевская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2020131341 ; заявл. 22.09.2020 ; опубл. 02.09.2021. – EDN: RCCADA

71. Мулдашев, Э. Р. Биоматериал Аллоплант для регенеративной хирургии : патент № 2189257 С1 Российская Федерация, МПК А61L 27/00, А01N 1/00 / Мулдашев Э. Р., Муслимов С. А., Вялков В. А., Галимова В. У., Нигматуллин Р. Т., Салихов А. Ю., Сельский Н. Е., Кийко Ю. И., Шангина О. Р., Булатов Р. Т., Мусина Л. А., Хасанов Р. А., Кийко М. Ю. – № 2001127296/14 ; заявл. 10.10.2001 ; опубл. 20.09.2002.

72. Мусин, И. И. Применение метода лазерной доплеровской флоуметрии для оценки состояния микроциркуляции тазового дна у женщин / И. И. Мусин, К. А. Камалова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2018. – № 18 (6). – С. 58–61.

73. Никольский, В. И. Скаффолд-технологии в восстановительной медицине: история вопроса, современное состояние и перспективы применения / В. И. Никольский, К. И. Сергацкий, Д. П. Шеремет, А. В. Шабров // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2022. – № 11. – С. 36–41.

74. Новиков, В. И. Тиоктовая кислота: точка приложения – диабетическая нейропатия / В. И. Новиков, К. Ю. Новиков // Эффективная фармакотерапия. Выпуск 53. Эндокринология. – 2014. – № 6. – С. 46–54.

75. Олифирова, О. С. Способ стимуляции заживления ран различного генеза природным антиоксидантом дигидрокверцетином : патент РФ RU 2 522 214 С1 / Олифирова О. С., Целуйко С. С., Брегадзе А. А., Лебедь А. А., Алексеевна В. В., Штарберг М. А. – № 2012151726/15 ; заявл. 12.03.2012 ; опубл. 07.10.2014.

76. Олифирова, О. С. Антиоксиданты в комплексном лечении гнойно-некротических ран / О. С. Олифирова, А. А. Козка // Дальневосточный медицинский журнал. – 2015. – № 2. – С. 21–23.

77. Панарин, Е. Ф. Матрицы для культивирования клеток кожи человека на основе природных полисахаридов – хитина и хитозана / Е. Ф. Панарин, П. А. Нудьга, В. А. Петрова, А. М. Бочек, И. В. Гофман, М. Ф. Лебедева, М. И. Блинова, О. Г. Спичкина, Н. М. Юдинцева, Г. Л. Пинаев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4, № 3. – С. 41–46.

78. Рассказов, Н. И. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке кожной микроциркуляции / Н. И. Рассказов, Г. А. Трубников, Л. П. Воронина // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2004. – № 2. – С. 23–26.

79. Родин, А. Н. Влияние регионарной антиоксидантной терапии на фибринолитическую активность крови у больных с синдромом диабетической стопы / А. Н. Родин, Е. А. Рыгин, А. И. Глинова // Современные лечебно-диагностические технологии в хирургии и интенсивной терапии : III межрегиональная научно-практическая конференция, посвященная памяти С. В. Каткова (Саранск, 15 сентября 2023 года). – Саранск : Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва, 2023. – С. 97–100. – EDN: WDXWZG

80. Сагайдачный, А. А. Оклюзионная проба: методы анализа, механизмы реакции, перспективы применения / А. А. Сагайдачный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2018. – Т. 17, № 3. – С. 5–22.

81. Светухин, А. М. Особенности комплексного хирургического лечения нейропатической формы синдрома диабетической стопы / А. М. Светухин, А. Б. Земляной, В. А. Колтунов // Инфекции в хирургии. – 2008. – № 6 (1). – С. 64–67.

82. Ступин, В. А. Оценка динамики площади раны и частоты случаев полной эпителизации при лечении синдрома диабетической стопы (результаты многоцентрового исследования) / В. А. Ступин, Е. В. Силина, С. В. Горюнов,

В. А. Горский, В. Т. Кривихин, М. С. Богомолов, Е. Р. Баранцевич, К. А. Корейба // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2017. – № 3. – С. 55–60.

83. Стяжкина, С. Н. Клиническая эффективность тиоктовой кислоты при лечении синдрома диабетической стопы / С. Н. Стяжкина, А. Ю. Михайлов, И. А. Казакова, А. Д. Васильев, А. А. Жуйкова // Эффективная фармакотерапия. – 2021. – Т. 17, № 26. – С. 20–23. – doi: 10.33978/2307-3586-2021-17-26-20-23 EDN: UCEVGF

84. Тихонова, Г. П. Планируем клиническое исследование. Вопрос № 1: как определить необходимый объем выборки / Г. П. Тихонова // Здоровоохранение (Минск). – 2016. – № 9. – С. 47–53.

85. Троицкая, Н. И. Изменения состояния микроциркуляции при синдроме диабетической стопы / Н. И. Троицкая, К. Г. Шаповалов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2016. – № 7. – С. 5–8. – EDN: XXMPNN

86. Федоров, В. Д. Избранный курс лекций по гнойной хирургии / В. Д. Федоров, А. М. Светухин. – Москва : Миклош, 2007. – 365 с.

87. Хабриев, Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев. – 2-е издание, переработанное и дополненное. – Москва : Медицина, 2005. – 832 с.

88. Храмин, В. Н. Современные аспекты местного лечения хронических ран нижних конечностей у больных сахарным диабетом / В. Н. Храмин // Сахарный диабет. – 2005. – № 4. – С. 26–30.

89. Хышиктуев, Б. С. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате выдыхаемого воздуха и их клиническое значение / Б. С. Хышиктуев, Н. А. Хышиктуева, В. Н. Иванов // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996. – № 3. – С. 13–15.

90. Чекмарева, И. А. Морфологическая оценка эффективности применения гидрохирургической системы VersaJet в сочетании с комбинированной антибактериальной терапией при лечении гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы с биопленочными формами бактерий / И. А. Чекмарева, В. А. Митиш, О. В. Паклина, Л. А. Блатун,

Ю. С. Пасхалова, А. А. Ушаков, Р. П. Терехова, Е. Н. Гордиенко, С. Л. Соков, П. А. Муньос Сепеда, А. П. Качанжи // Раны и раневые инфекции. – 2015. – № 2 (3). – С. 8–20.

91. Шабров, А. В. Обоснование рациональной тактики ранних внутрипросветных вмешательств при химических ожогах пищевода (экспериментальное исследование) : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук : 14.01.17 / Шабров Александр Валерьевич ; ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Нижний Новгород, 2019. – 138 с.

92. Швец, Л. И. Лечение нейропатической плантарной язвы при синдроме диабетической стопы (клиническое наблюдение) / Л. И. Швец, Ю. М. Левина // Московский хирургический журнал. – 2021. – № 1 (75). – С. 94–100.

93. Armstrong, D. G. Diabetic Foot Ulcers: A Review. / D. G. Armstrong, T. W. Tan, A.J.M Boulton, S.A. Bus // JAMA. – 2023. – №330. – P. 62-75. doi: 10.1001/jama.2023.10578. PMID: 37395769; PMCID: PMC10723802.

94. Badylak, S. F. Extracellular matrix as a biological scaffold material: Structure and function / S. F. Badylak, D. O. Freytes, T. W. Gilbert // Acta Biomater. – 2009. – № 1. – P. 1–13.

95. Backer, D. Monitoring the microcirculation in the critically ill patient: Current methods and future approaches / D. Backer // Intensive Care Med. – 2010. – Vol. 36, № 11. – P. 1813–1825.

96. Bardill, J. R. Topical gel-based biomaterials for the treatment of diabetic foot ulcers / J. R. Bardill, M. R. Laughter, M. Stager, K. W. Liechty, M. D. Krebs, C. Zgheib // Acta Biomaterialia. – 2022. – Vol. 138. – P. 73–91.

97. Bjerre, L. M. Expressing the magnitude of adverse effects in case-control studies: “the number of patients needed to be treated for one additional patient to be harmed” / L. M. Bjerre, J. LeLorier // B.M.J. – 2000. – Vol. 320. – P. 503–506.

98. Bland, J. M. Statistics Notes: The odds ratio / J. M. Bland, D. G. Altman // *B.M.J.* – 2000. – Vol. 320. – P. 1468.
99. Bracken, M. B. Steroids for acute spinal cord injury / M. B. Bracken // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2012. – Vol. 1 (1). – P. CD001046.
100. Brownlee, M. The pathobiology of diabetic complications / M. Brownlee // *Diabetes.* – 2005. – Vol. 54. – P. 1615–1625.
101. Brunt, V. E. Cutaneous thermal hyperemia: More than skin deep / V. E. Brunt, C. T. Minson // *J. Appl. Physiol.* – 2011. – Vol. 111, № 1. – P. 5–7.
102. Carmagnola, I. Scaffold functionalization to support a tissue biocompatibility / I. Carmagnola, E. Ranzato, V. Chiono // *Functional 3D Tissue Engineering Scaffolds. Materials, Technologies and Applications* / editors Y. Deng, J. Kuiper. – Elsevier Ltd., 2018. – P. 255–277. doi: 10.1016/B978-0-08-100979-6.00011-2
103. Chaugule, S. R. Marine Natural Products: New Avenue in Treatment of Osteoporosis / S. R. Chaugule, M. M. Indap, S. V. Chiplunkar // *Front. Mar. Sci.* – 2017. – № 4. – P. 384.
104. Charkoudian, N. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why / N. Charkoudian // *Mayo clinic proceedings.* – 2003. – Vol. 78 (5). – P. 603–612.
105. Chang, M. Strategy for Treatment of Infected Diabetic Foot Ulcers / M. Chang, T. T. Nguyen // *Acc Chem Res.* – 2021. – № 54(5). – P. 1080-1093. doi: 10.1021/acs.accounts.0c00864. Epub 2021 Feb 17. PMID: 33596041.
106. Chen, J. Fish Collagen Surgical Compress Repairing Characteristics on Wound Healing Process in Vivo / J. Chen, K. Gao, S. Liu, S. Wang, J. Elango, B. Bao, J. Dong, N. Liu, W. Wu // *Mar. Drugs.* – 2019. – № 17. – P. 33.
107. Chiarini, A. Silk fibroin/poly(carbonate)-urethane as a substrate for cell growth: in vitro interactions with human cells / A. Chiarini, P. Petrini, S. Bozzini, I. Dal Pra, U. Armato // *Biomaterials.* – 2003. – Vol. 24, № 5. – P. 789–799.
108. Choi, P. J. New approach to measure cutaneous microvascular function: An improved test of NO-mediated vasodilation by thermal hyperemia / P. J. Choi,

V. E. Brunt, N. Fujii, C. T. Minson // *Journal of Applied Physiology*. – 2014. – Vol. 117, № 3. – P. 277–283.

109. Cohen, J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* / J. Cohen. – 2nd ed. – Routledge, 1988. – 567 p.

110. Cracowski, J. L. *Current Methods to Assess Human Cutaneous Blood Flow: An 103 Updated Focus on Laser-Based-Techniques* / J. L. Cracowski, M. Roustit // *Microcirculation*. – 2016. – Vol. 23, № 5. – P. 337–344.

111. Daanen, H. *Finger cold-induced vasodilation: a review* / H. Daanen // *European journal of applied physiology*. – 2003. – Vol. 89, № 5. – P. 411–426.

112. Ehrlich, H. *Mineralization of the metre-long biosilica structures of glass sponges is templated on hydroxylated collagen* / H. Ehrlich, R. Deutzmann, E. Brunner, E. Cappellini, H. Koon, C. Solazzo, Y. Yang, D. Ashford, J. Thomas-Oates, M. Lubeck // *Nat. Chem*. – 2010. – № 2. – P. 1084–1088.

113. Falanga, V. *Wound Bed Preparation and the Role of Enzymes: A Case for Multiple Actions of Therapeutic Agents* / V. Falanga // *Wounds*. – 2002. – Vol. 14 (2). – P. 47–57.

114. Fivenson, D. *Clinical and economic impact of Apligraf for the treatment of nonhealing venous leg ulcers* / D. Fivenson, L. Scherschun // *Int. J. Dermatol*. – 2003. – Vol. 42 (12). – P. 960–965. – doi: 10.1111/j.1365-4632.2003.02039

115. Gardner, M. J. *Statistics with confidence* / M. J. Gardner, D. G. Altman // *B.M.J*. – 1994. – Pub. Rep. – P. 51–52.

116. Garcia-Diez, A. I. *Imaging of the Diabetic Foot*. / A. I. Garcia-Diez, X. Tomas Batlle, A. Perissinotti, J. Isern-Kebschull, M. Del Amo, J. C. Soler, A. Bartolome, J. T. Bencardino // *Semin Musculoskelet Radiol*. – 2023. - №27(3). – P. 314-326. doi: 10.1055/s-0043-1764386. Epub 2023 May 25. PMID: 37230131.

117. Gentzkow, G. D. *Use of dermagraft, a cultured human dermis, to treat diabetic foot ulcers* / G. D. Gentzkow, S. D. Iwasaki, K. S. Hershon, M. Mengel, J. J. Prendergast, J. J. Ricotta, D. P. Steed, S. Lipkin // *Diabetes Care*. – 1996. – Vol. 19 (4). – P. 350–354. – doi: 10.2337/diacare.19.4.350

118. Giacco, F. Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // *Circulation Research*. – 2010. – Vol. 107. – P. 1058–1070.
119. Gotz, J. Off-loading strategies in diabetic foot syndrome-evaluation of different devices / J. Gotz, M. Lange, S. Dullien [et al.] // *Int Orthop*. – 2017. – Vol. 41, № 2. – P. 239–246.
120. Guan, X. Development of hydrogels for regenerative engineering / X. Guan, M. Avci-Adali, E. Alarcin, H. Cheng, S. S. Kashaf, Y. Li // *Biotechnol J*. – 2017. – Vol. 12 (5). – P. 1–34.
121. Hafez, A. T. 4 layer versus 1-layer small intestinal submucosa for correction of penile chordee: experimental study in a rabbit model / A. T. Hafez, A. El-Assmy, M. A. El-Hamid // *J Urol*. – 2004. – Vol. 171 (6 Pt 1). – P. 2489–2491. – doi: 10.1097/01.ju.0000125298.26997.84
122. Held, M. A Quantitative analysis of microcirculation in skin defects covered with topical wound dressings or a newly developed collagen matrix / M. Held, F. Medved, W. Petersen // *Adv Skin Wound Care*. – 2017. – Vol. 30, № 11. – P. 517–521.
123. Higashi, Y. Assessment of endothelial function / Y. Higashi // *International heart journal*. – 2015. – № 56 (2). – P. 125–134. – doi: 10.1536/ihj.14-385
124. Hodde, J. Effects of sterilization on an extracellular matrix scaffold: part I. Composition and matrix architecture / J. Hodde, A. Janis, D. Ernst, D. Zopf, D. Sherman, C. Johnson // *J. Mater Sci Mater Med*. – 2007. – Vol. 18. – P. 535–537.
125. Hodges, G. J. The involvement of heating rate and vasoconstrictor nerves in the cutaneous vasodilator response to skin warming / G. J. Hodges, W. A. Kosiba, K. Zhao, J. M. Johnson // *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*. – 2009. – Vol. 296, № 1. – P. 51–56.
126. Hu, K. Biocompatible fibroin blended films with recombinant human-like collagen for hepatic tissue engineering / K. Hu, Q. Lv, F. Cui, Q. Feng, X. Kong, H. Wang, L. Huang, T. Li // *J Bioact Compat Polym*. – 2006. – Vol. 21, № 1. – P. 23–37.

127. Jagadish, M. Diabetic foot ulcers: the importance of patient comorbidity recognition and total contact casting in successful wound care / M. Jagadish, M. M. McNally, R. E. Heidel // *Am Surg.* – 2016. – Vol. 82, № 8. – P. 733–736.

128. Janmey, P. A. Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications / P. A. Janmey, J. P. Winer, J. W. Weisel // *J. R. Soc Interface.* – 2009. – Vol. 6 (30). – P. 1–10.

129. Johnson, P. J. Controlled release of Neurotrophin-3 and platelet-derived growth factor from fibrin scaffolds containing neural progenitor cells enhances survival and differentiation into neurons in a subacute model of SCI / P. J. Johnson, A. Tataru, A. Shiu, S. E. Sakiyama-Elbert // *Cell Transplant.* – 2010. – Vol. 19 (1). – P. 89–101.

130. Karabey-Akyurek, Y. Localized delivery of methylprednisolone sodium succinate with polymeric nanoparticles in experimental injured spinal cord model / Y. Karabey-Akyurek, A. G. Gurcay, O. Gurcan, O. F. Turkoglu, S. Yabanoglu-Ciftci, H. Eroglu, M. F. Sargon, E. Bilensoy, L. Oner // *Pharm Dev Technol.* – 2017. – Vol. 22 (8). – P. 72–81.

131. Karayilmaz, H. Comparison of the reliability of laser Doppler flowmetry, pulse oximetry and electric pulp tester in assessing the pulp vitality of human teeth / H. Karayilmaz, Z. Kirzioğlu // *Journal of oral rehabilitation.* – 2011. – № 38 (5). – P. 340–347. – doi: 10.1111/j.1365-2842.2010.02160

132. Kellogg, J. In vivo mechanisms of cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans during thermoregulatory challenges / J. Kellogg, L. Dean // *Journal of applied physiology.* – 2006. – Vol. 100, № 5. – P. 1709–1718.

133. Lam, M. T. Biomaterial applications in cardiovascular tissue repair and regeneration / M. T. Lam, J. C. Wu // *Expert Rev Cardiovasc Ther.* – 2012. – № 10 (8). – P. 1039–1049.

134. Levels of Evidence // Oxford centre for evidence based medicine. – 2009. – URL: <http://www.cebm.net/index.aspx?o=1025> (дата обращения: 12.02.2022)

135. Maritim, A. C. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants, a review / A. C. Maritim, R. A Sanders, J. B. Watkins, III // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2003. – Vol. 17. – P. 24–38.

136. Marston, W. A. Dermagraft, a bioengineered human dermal equivalent for the treatment of chronic nonhealing diabetic foot ulcer / W. A. Marston // *Expert Rev Med Devices.* – 2004. – Vol. 1 (1). – P. 21–31. – doi: 10.1586/17434440.1.1.21

137. Mehta, S. Hydrogel-based Treatment Strategies to Accelerate Diabetic Foot Ulcer Healing. / S. Mehta, S. Wadhwa, S. R. Nayak, R. Kumar // *Curr Diabetes Rev.* – 2023. – №19(8):e270123213221. doi: 10.2174/1573399819666230127150328. PMID: 36705237.

138. Merheb, M. Effect of total contact cast in non-healing diabetic foot ulcers in Lebanese patients / M. Merheb, E. Gharios, A. Younes // *Int Wound J.* – 2017. – Vol. 14, № 5. – P. 751–753.

139. Minoura, N. Fine structure and oxygen permeability of silk fibroin membrane treated with methanol / N. Minoura, M. Tsukada, M. Nagura // *Polymer (Guildf).* – 1990. – Vol. 31, № 2. – P. 265–269.

140. Newcombe, R. G. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods / R. G. Newcombe // *Statistics in medicine.* – 1998. – № 17. – P. 857–872.

141. OuYang, H. Platelet-rich plasma for the treatment of diabetic foot ulcer: a systematic review. / H. OuYang, Y. Tang, F. Yang, X. Ren, J. Yang, H. Cao, Y. Yin. // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2023. – №18. – P. 1-13. doi: 10.3389/fendo.2023.1256081. PMID: 38169990; PMCID: PMC10760804.

142. Pessoa, A. F. Oral administration of antioxidants improves skin wound healing in diabetic mice / A. F. Pessoa, J. C. Florim, H. G. Rodrigues, V. Andrade-Oliveira, S. A. Teixeira, K. F. Vitzel // *Wound Repair Regen.* – 2016. – Vol. 24. – P. 981–993.

143. Peters, E. J. Diagnosis and management of infection in the diabetic foot / E. J. Peters, B. A. Lipsky // *Med Clin North Am.* – 2013. – № 97 (5). – P. 911–946.

144. Petrini, P. Silk fibroin-polyurethane scaffolds for tissue engineering / P. Petrini, C. Parolari, M. C. Tanzi // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2001. – Vol. 12, № 10–12. – P. 849–853.
145. Probst, F. A. Calvarial reconstruction by customized bioactive implant / D. W. Hutmacher, D. F. Muller, H. G. Machens, J. T. Schantz // *Handchir. Microchir. Plast. Chir.* – 2010. – № 42. – P. 369–373.
146. Rai, S. Total contact casting in the treatment of nonhealing plantar ulcers in anesthetic foot / S. Rai, A. K. Gupta, D. Kumar // *Indian J. Dermatol Venereol Leprol.* – 2016. – Vol. 82, № 4. – P. 422–423.
147. Rahman, M. A. Collagen of Extracellular Matrix from Marine Invertebrates and Its Medical Applications / M. A. Rahman // *Mar Drugs.* – 2019. – № 17 (2). – P. 118.
148. Rask-Madsen, C. Vascular complications of diabetes: mechanisms of injury and protective factors / C. Rask-Madsen, G. King // *Cell metabolism.* – 2013. – Vol. 17, № 1. – P. 20–33.
149. Rastogi, A. Intensive Glycemic Control for Diabetic Foot Ulcer Healing: A Multicentric, Randomized, Parallel Arm, Single-Blind, Controlled Study Protocol (INGLOBE Study). / A. Rastogi, S. Mukhopadhyay, J. P. Sahoo, A. Mennon, A. Ghosh, S. Jha, A. Bal // *Int J Low Extrem Wounds.* – 2022. – №21(4). P. 443-449. doi: 10.1177/1534734620952245. Epub 2020 Sep 9. PMID: 32907433.
150. Rehman, Z. U. Diabetic Foot Ulcers: Contemporary Assessment And Management. / Z. U. Rehman, J. Khan, S. Noordin // *J Pak Med Assoc.* – 2023. – №73(7). – P. 1480-1487. doi: 10.47391/JPMA.6634. PMID: 37469062.
151. Rizzoni, D. New Methods to Study the Microcirculation / D. Rizzoni // *Am. J. Hypertens.* – 2018. – Vol. 31, № 3. – P. 265–273.
152. Riva, C. E. Ocular blood flow assessment using continuous laser Doppler flowmetry / C. E. Riva, M. Geiser, B. L. Petrig // *Acta ophthalmologica.* – 2010. – № 88 (6). – P. 622–629. – doi: 10.1111/j.1755-3768.2009.01621

153. Roustit, M. Non-invasive Assessment of Skin Microvascular Function in Humans: An Insight Into Methods / M. Roustit, J. L. Cracowski // *Microcirculation*. – 2012. – Vol. 19 (1). – P. 47–64.
154. Santaram, V. Pathogenesis of atherosclerosis in diabetes and hypertension / V. Santaram // *Clinical Expert Hypertension*. – 1999. – Vol. 21, № 1–2. – P. 69–77.
155. Seeger, M. A. The roles of growth factors in keratinocyte migration / M. A. Seeger, A. S. Paller // *Adv Wound Care*. – 2015. – № 4 (4). – P. 213–224.
156. Sies, H. Oxidative stress, a concept in redox biology and medicine / H. Sies // *Redox. Biol.* – 2015. – Vol. 4. – P. 180–183.
157. Schafer, M. Oxidative stress in normal and impaired wound repair / M. Schafer, S. Werner // *Pharmacol Res.* – 2008. – Vol. 58 (2). – P. 165–171.
158. Sharma, K. Mitochondrial hormesis and diabetic complications / K. Sharma // *Diabetes*. – 2015. – Vol. 64. – P. 663–672.
159. Stiefel, P. Which parameter is better to define endothelial dysfunction in a test of postocclusive hyperemia measured by Laser-Doppler flowmetry? / P. Stiefel, R. MorenoLuna, A. J. Vallejo-Vaz // *Coronary Artery Disease*. – 2012. – Vol. 23, № 1. – P. 57–61.
160. Stirban, A. Microvascular Dysfunction in the Context of Diabetic Neuropathy / A. Stirban // *Current Diabetes Reports*. – 2014. – Vol. 14, № 11. – P. 1–9.
161. Sugihara, A. Promotive effects of a silk film on epidermal recovery from full-thickness skin wounds / A. Sugihara, K. Sugiura, H. Morita, T. Ninagawa, K. Tubouchi, R. Tobe, S. Ikehara // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 225, № 1. – P. 58–64.
162. Taylor, S. J. Controlled release of neurotrophin-3 from fibrin gels for spinal cord injury / S. J. Taylor, J. W. McDonald, S. E. Sakiyama-Elbert // *J. Control Release*. – 2004. – Vol. 98 (2). – P. 81–94.
163. Unger, R. E. Endothelialization of a non-woven silk fibroin net for use in tissue engineering: growth and gene regulation of human endothelial cells /

R. E. Unger, K. Peters, M. Wolf, A. Motta, C. Migliaresi, C. J. Kirkpatrick // *Biomaterials*. – 2004. – Vol. 25, № 21. – P. 5137–5146.

164. Voelker, R. What Are Diabetic Foot Ulcers? / R. Voelker // *JAMA*. – 2023. – №330(23). – P. 2314. doi: 10.1001/jama.2023.17291. PMID: 37976071.

165. Wang, X. Biomaterial coatings by stepwise deposition of silk fibroin / X. Wang, H. J. Kim, P. Xu, A. Matsumoto, D. L. Kaplan // *Langmuir*. – 2005. – Vol. 21, № 24. – P. 11335–11341.

166. Waymack, P. The effect of a tissue engineered bilayered living skin analog, over meshed split-thickness autografts on the healing of excised burn wounds. The Apligraf Burn Study Group / P. Waymack, R. G. Duff, M. Sabolinski // *Burns*. – 2000. – Vol. 26 (7). – P. 609–619. – doi: 10.1016/s0305-4179(00)00017-6

167. Wright, C. I. Non-invasive methods and stimuli for evaluating the skin's microcirculation / C. I. Wright, C. I. Kroner, R. Draijer // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 2006. – Vol. 54, № 1. – P. 1–25.

168. Wukich, D. K. Limb Salvage in Severe Diabetic Foot Infection./ D. K. Wukich, M. J. Johnson, K. M. Rasovic // *Foot Ankle Clin*. – 2022. - №27(3). – P. 655-670. doi: 10.1016/j.fcl.2022.02.004. Epub 2022 Aug 10. PMID: 36096557.

169. Yu, Z. Application of fibrin-based hydrogels for nerve protection and regeneration after spinal cord injury / Z. Yu, H. Li, P. Xia, W. Kong, Y. Chang, C. Fu, K. Wang, X. Yang, Z. Qi. // *J Biol Eng*. – 2020. – Vol. 14. – P. 22. – doi: 10.1186/s13036-020-00244-3

170. Zhang, W. Antioxidant Therapy and Antioxidant-Related Bionanomaterials in Diabetic Wound Healing / W. Zhang, L. Chen, Y. Xiong, C. Panayi Adriana, A. Abududilibaier, Y. Hu, C. Yu, W. Zhou, Y. Sun, M. Liu, H. Xue, L. Hu, C. Yan, X. Xie, Z. Lin, F. Cao, B. Mi, G. Liu // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 9. – P. 1–14.

171. Zhang, Y. S. Advances in engineering hydrogels / Y. S. Zhang, A. Khademhosseini // *Science*. – 2017. – Vol. 356 (6337). – P. 1–27.

Приложение А

Акты внедрения результатов диссертационной работы

“УТВЕРЖДАЮ”

Ректор ФГБОУ ВО
Пензенского Государственного Университета
А.Д. Гуляков
2024 г.



А К Т

внедрения в учебный процесс Медицинского института ФГБОУ ВО Пензенского Государственного университета результатов диссертационного исследования Захарова Артема Дмитриевича на тему «Экспериментально-клиническое обоснование применения внеклеточного коллагенового матрикса для лечения послеоперационных ран у пациентов с синдромом диабетической стопы».

Мы, нижеподписавшиеся, Митрошин Александр Николаевич – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой «Хирургия» Медицинского института ПГУ, Сергацкий Константин Игоревич – д.м.н., профессор кафедры «Хирургия» Медицинского института ПГУ, удостоверяем факт внедрения результатов научной работы Захарова Артема Дмитриевича в учебный процесс кафедры «Хирургия» Медицинского института ПГУ. Внедрен способ местного лечения длительно незаживающих послеоперационных ран у пациентов с синдромом диабетической стопы. Материалы исследования используются при чтении лекций и проведения семинаров со слушателями сертификационного цикла, клиническими ординаторами и студентами 3 – 6 курсов.

Зав. каф. «Хирургия»
МИ ПГУ д.м.н., профессор А.Н. Митрошин

Профессор каф. «Хирургия»
МИ ПГУ д.м.н., К.И. Сергацкий

Подпись А.Н. Митрошина, К.И. Сергацкого, заверяю



Сергацкого

"УТВЕРЖДАЮ"

Главный врач
ГБУЗ «Клиническая больница №6 им. Г.А. Захарьина»
Кибиткин Андрей Станиславович
"11" 02 2024 г.

А К Т

внедрения в лечебный процесс отделения гнойной хирургии отделения ГБУЗ «Клиническая больница №6 им. Г.А. Захарьина» положения диссертационной работы Захарова Артема Дмитриевича на тему «Экспериментально-клиническое обоснование применения внеклеточного коллагенового матрикса для лечения послеоперационных ран у пациентов с синдромом диабетической стопы».

Мы, нижеподписавшиеся, члены комиссии в составе: Середина Сергея Александровича – заместитель главного врача по хирургии; Пьянова Николая Андреевича – заведующего отделением гнойной хирургии; Пескова Александра Викторовича – хирурга отделения гнойной хирургии удостоверяем, что полученные диссертантом результаты исследований:

1) По применению внеклеточного коллагенового матрикса для лечения послеоперационных ран у пациентов с синдромом диабетической стопы внедрены в практику работы отделения гнойной хирургии ГБУЗ «КБ№6 им. Г.А. Захарьина» в 2023-2024 гг.

Зам. главного врача
по хирургии

С.А. Середин

Зав. отделения гнойной хирургии

Н.А. Пьянов

Хирург отделения гнойной хирургии

А.В. Песков

Подпись С.А. Середина, Н.А. Пьянова, А.В. Пескова заверяю

“УТВЕРЖДАЮ”

Директор ООО «Центр доклинических исследований»

И.В. Ефимова

“ 8 ”

2023 г.



А К Т

внедрения в процесс доклинических исследований ООО «Центр доклинических исследований» результатов диссертационного исследования Захарова Артема Дмитриевича на тему «Экспериментально-клиническое обоснование применения внеклеточного коллагенового матрикса для лечения послеоперационных ран у пациентов с синдромом диабетической стопы».

Мы, нижеподписавшиеся, Ефимова Ирина Викторовна – Директор ООО «Центр доклинических исследований», Баулин Афанасий Васильевич – к.м.н., заместитель директора ООО «Центр доклинических исследований», удостоверяем факт внедрения результатов научной работы Захарова Артема Дмитриевича в процесс доклинических исследований ООО «Центр доклинических исследований». Внедрен способ активизации репаративных процессов в ранах у крыс линии «Вистар».

Директор
ООО «Центр доклинических исследований»
И.В. Ефимова



Заместитель директора
ООО «Центр доклинических исследований»
к.м.н., А.В. Баулин

Подпись И. В. Ефимовой, А.В. Баулина заверяю

Приложение Б

Патент на изобретение № 2793889 «Способ активизации репаративных процессов в ранах у пациентов с синдромом диабетической стопы»

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ
НА ИЗОБРЕТЕНИЕ
№ 2793889

**СПОСОБ АКТИВИЗАЦИИ РЕПАРАТИВНЫХ
ПРОЦЕССОВ В РАНАХ У ПАЦИЕНТОВ С
СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования ФГБОУ ВО "Пензенский государственный университет" (RU)*

Авторы: *Никольский Валерий Исаакович (RU), Захаров Артем Дмитриевич (RU), Шабров Александр Валерьевич (RU), Сергацкий Константин Игоревич (RU), Дятлов Антон Вячеславович (RU), Венедиктов Алексей Александрович (RU)*

Заявка № 2022111045
Приоритет изобретения **22 апреля 2022 г.**
Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **07 апреля 2023 г.**
Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **22 апреля 2042 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности



Ю.С. Зубов

документ подписан электронной подписью
Сертификат: 60b60077e14e3970a54edbd24145d5c7
Владелец: **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 2022 по 24.05.2023