

Ш.З.МАВЛЯНОВА, С.З.ОБИДОВ

ЯЗВЕННЫЕ ПОРАЖЕНИЯ КОЖИ

ТАШКЕНТ

2025 ГОД

УДК:616.5-002.44

Мавлянова Ш.З. Обидов С.З. Язвенные поражения кожи. – Ташкент.:2025г. -с 144.

Ш.З.Мавлянова - доктор медицинских наук, профессор, заведующий отдела дерматологии Республиканского Специализированного научно-практического медицинского центра дерматовенерологии и косметологии Министерство Здравоохранения Республики Узбекистан.

С.З.Обидов - PhD научный сотрудник Республиканского Специализированного научно-практического медицинского центра дерматовенерологии и косметологии Министерство Здравоохранения Республики Узбекистан

Рецензенты:

Мирсаидова М.А. – д.м.н., Руководитель центра по непрерывному повышению квалификации врачей РСНПМЦДВиК МЗ РУз

Абдурашидов А.А– к.м.н., Доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии Центра развития профессиональной квалификации медицинских работников МЗ РУз

В монографии рассматриваются проблемы язвенных поражений кожи, патогенеза, клиники и диагностики, лечения, профилактики.

Монография предназначена для специалистов дерматовенерологов, врачей общей практике, инфекционистов, врачей хирургической специальности, а также студентов высших учебных заведений, магистров и клинических ординаторов.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие.....	5
О патогенезе трофической язвы кожи	7
Роль генов эндотелиальной системы в патогенезе язвенных поражений кожи	24
К результатам выявляемости аллельных вариантов и ассоциации полиморфизмов генотипов (rs1800790) G-455A гена FGB у больных с язвенными поражениями кожи.....	24
Анализ выявляемости аллельных вариантов и ассоциации полиморфизма генотипов гена серпин 1 (PAI-1) 675(rs 1799768) 5G>4G у больных с язвенными поражениями кожи	34
К клинической классификации трофических язв	39
Клиническое течение язвенных поражений кожи.....	42
Клинико - морфологические изменения у больных с язвенными поражениями кожи.....	50
Патоморфологические и иммуногистохимические особенности трофических язв	53
Современные представления лечения трофических язв кожи.....	57
Роль фибробластов в регенерации, межклеточные взаимодействия.....	63
Аутологичная богатая тромбоцитами плазма.....	67
Способы получения аутологичной богатой тромбоцитами плазмы	72
Инновации в лечении язвенных поражениях кожи	74
Инновационный способ лечения трофической язвы.....	74
Способ клеточной технологии в лечении трофических язв.....	76
Комбинированный способ фототерапии при лечении язвенных поражений кожи.....	79
Морфометрическая оценка биоптатов кожи у больных с язвенными поражениями кожи на фоне получавшей терапии.	9
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	113

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

MRSA	Метициллинрезистентный стафилококк <i>st. Aureus</i>
MSSA	Метициллин чувствительный <i>st. Aureus</i>
PDAF	Platelet-derived angiogenic factor
PDGF	Platelet-derived growth factor
PPP	Platelet poor plasma
PRGF	Platelet rich growth factor
TGF- β	Transforming growth factor beta
TIMP	Тканевой ингибитор
VEGF	Vascular endothelial growth factor
WHF	Wound Healing Foundation
WHS	Wound Healing Society
АД	Артериальная давления
БоТП	Богатая тромбоцитами плазма
ГЭ	Гематоксилин-эозин
ИЛ	Интерлейкин
ММР	Матричный металлопротеаз
МПС	Моче-полевая система
МЦР	Микроциркуляторная русло
ППИ	Полихроматического поляризованного излучения
ПТФС	Посттромбофлебитический синдром
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
СДС	Синдром диабетической стопы
ССС	Сердечно сосудистая система
ТЯ	Трофическая язва
ФР	Факторы роста
ХВН	Хроническая венозная недостаточность
ХЯП	Хроническая язвенная пиодермия
ЯНВ	Язвенно- некротический васкулит
ЯПК	Язвенные поражения кожи

Предисловие

В последнее время проблема трофических язв приобретает актуальную проблему в связи с хронизацией, тяжелым течением, резистентностью к базисным методам терапии и снижением качества жизни больных.

Следует отметить, что в дерматологической практике наиболее часто диагностируются трофические язвы голени, которые встречаются у 1-2% трудоспособного населения, и в основном возрастной группе старше 65 лет, частота которого достигает около 34% случаев. [Perrin M., 2006; Tan J., 2007; Howard D.P., 2008]. Однако, практика показывает, что в последнее время дерматологической практике наблюдается частая регистрация язвенных очагов поражения кожи, располагающиеся в других участках кожи (туловища, кожа в/ч головы, лицо и др.) Возникая на фоне хронических инфильтративно-воспалительных заболеваний кожи, обусловленные условно-патогенными микроорганизмами, язвенные очаги приобретают более тяжелое, медленно-заживляющее клиническое течение.

Согласно литературным данным, основными триггерными факторами развития трофических язв являются нарушения микроциркуляторного русла сосудистой системы нижних конечностей - 53-86% случаев (Humphreys M. с соавт. 2007), эндокринопатия (диабетическая ангиопатия) - 43%, бактериальные инфекции – 27,6%.

В патогенезе трофических язв важное значение придается функциональным нарушениям сосудистой системы (Treiman G., 2001), заболеванием нервной системы (нейропатия), нарушения лимфатической системы, нарушения белково-минерального обмена организма (Бородин Ю.И. и соавт., 2011), нарушения функции иммунокомпетентных клеток (Коненков В.И. и соавт., 2012).

В отечественной и зарубежной литературе данные о состоянии морфологической картины трофических язв у кожных больных противоречивы, отсутствует сведения по изучению цитокинового статуса и

микробиомы кожи в клиническом течении трофических язв у этой категории больных.

Все это позволяет считать целесообразным проведение дальнейших исследований, направленных на изучение клинического течения трофических язв, выяснение основных патогенетических факторов заболевания, совершенствование методов диагностики и терапии.

Все выше изложенное определяет основную задачу настоящей монографии – осветить проблему язвенных поражений кожи, указать роль генетических факторов и микробиоты и продуктов его метаболизма как этиологического и патогенетического фактора при развитии и клиническом течении заболеваемости. В книге представлены основные данные, имеющиеся в отечественной и зарубежной литературе, и результаты собственных научно-исследовательских работ и многолетних клинических наблюдений.

Автор надеется, что монография будет представлять большой практический интерес не только для дерматовенерологов, но и для инфекционистов и врачей других специальностей. Все критические замечания и пожелания по данной работе будут приняты автором с благодарностью.

1. О патогенезе трофической язвы кожи

Трофические язвы (ТЯ) представляют собой длительно не заживающие раневые дефекты кожи, резистентные к проводимому лечению, возникшие в результате внешних или внутренних причин, или их сочетания [Обидов С.З. 2025]. На протяжении многих десятилетий ТЯ находятся в центре пристального внимания клиницистов и специалистов, работающих в различных отраслях фундаментальной медицины. Несмотря на то, что эта проблема сохраняется не один десяток лет, сегодняшний день в литературе нет единой концепции патогенеза ТЯ. Около 1-2% трудоспособного населения развитых стран страдает этой патологией [Савельев В.С. и соавт. 2001], среди лиц старше 70 лет — это соотношение достигает 5-7% [Jamieson W.G, DeRose G. 1990]. ТЯ чаще встречаются в возрасте от 30 до 77 лет [Коненков В.И., Бородин Ю.И. 2012]. Женщины страдают в 2-3 раза чаще мужчин в соотношении 2:1 или 3,5: 1. ТЯ могут быть проявлением артериальной патологии, микроциркуляторных и нейротрофических нарушений, хронической травмы и нарушений углеводного обмена. Вместе с тем наиболее значимую когорту около 60-70% больных с ТЯ имеют в качестве этиологического фактора хроническую венозную недостаточность (ХВН) при варикозной болезни или посттромбофлебитическом синдроме (ПТФС) [Богачев В.Ю. 2007., Альбицкий А.В 2006], остальные нозологии распределены примерно следующим образом: язвы, образовавшиеся в результате критической ишемии – 14%, смешанного генеза – 13%, диабетические – 5%, (среди больных сахарным диабетом число лиц, имеющих язвенные дефекты стоп, достигает 15%). нейротрофические – 1%, 15% заболевших страдают рецидивирующими и декомпенсированными формами с выраженными трофическими нарушениями кожи [Flanagan M. 2003].

Основной причиной ТЯ является ХВН нижних конечностей, обусловленная варикозной болезнью. Первоочередное значение для развития ХВН имеют возраст старше 50 лет, избыточная масса тела и урбанизация

[Богачев В.Ю. 2007., Альбицкий А.В 2006]. Кроме того, важную роль играют малоподвижный образ жизни, нерациональное питание, неадекватное использование контрацептивов, перенесенный ранее тромбоз глубоких вен, тяжелые травмы нижних конечностей. При варикозном расширении подкожных вен частота трофических расстройств находится в определенной зависимости от длительности заболевания, возраста и пола больного, характера варикозного расширения вен, степени нарушения венозной макро- и микрогемодинамики [Мавлянова Ш.З., Обидов С.З., и соавт. 2024].

В основе патогенеза ТЯ независимо от их происхождения лежат однотипные механизмы, а именно нарушение микроциркуляции, клеточной активности, синтеза экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), высвобождения факторов роста и неоваскуляризации.

На сегодняшний день конечное звено в патогенезе ТЯ связывают с нарушениями в микроциркуляторном русле (МЦР). При этом в большинстве руководств отмечается, что ухудшение МЦР вызывается венозной гипертензией и определяет самые ранние симптомы ХВН включающей макро и микроциркуляторные расстройства в венозном русле, биофизические, биохимические и иммунологические процессы, а также нарушение лимфодренажа, влияющие на течение репаративных процессов в тканях ног [Harrison M.B., 2005., Grassi F.R. 2016].

По мнению Г.В. Чепеленко, венозный стаз при варикозной болезни возникает вследствие деформирующего флебосклероза и потери венозной стенкой своих биомеханических свойств (поражение сократительных структур ведет к потере тонуса, а поражение опорных структур – к варикозному перерождению), а также нарушение функции клапанов как дериватов венозной стенки. ХВН нижних конечностей – это, прежде всего, недостаточное их освобождение от венозной крови, а не недостаточность притока крови к сердцу. Развивающаяся при ХВН нижних конечностей вследствие снижения функционирования мышечной помпы голени, хроническая венозная гипертензия постепенно приводит к вторичным

нарушениям микроциркуляции и обмена веществ, а в конечном итоге – к повреждению интерстициальных тканей и кожи с образованием ТЯ. Клиническая картина при ХВН нижних конечностей обусловлена не только динамической венозной недостаточностью, но и нарушением резорбции интерстициальной жидкости в лимфатических капиллярах кожи, в отводящих прекапиллярных сетях, блокадой преколлекторных сосудов, задержкой движения лимфы по коллекторным сосудам и вторичными изменениями регионарных лимфатических узлов, ухудшающих транспорт лимфы всей нижней конечности. Одновременно имеются публикации, согласно которым ведущим фактором в развитии ХВН является гиперволемиа [Богачев В.Ю. 2007].

Таким образом, большинство авторов связывают развитие ХВН нижних конечностей либо с накоплением в них избыточного количества крови и/или уменьшением ее возврата, либо с развитием патологических рефлюксов. Эти процессы чаще всего взаимосвязаны, однако могут существовать самостоятельно.

В последнее десятилетие уделяется большое внимание проведению фундаментальных исследований по изучению молекулярных и клеточных механизмов патогенеза. Известно несколько теорий образования ТЯ нижних конечностей: теория нарушения микроциркуляции, теория гипоксии, фибриновая экссудативная теория, теория лейкоцитарной агрессии, микробная теория, теория иммунных нарушений [Альбицкий А.В., 2006., Андреев Д. Ю., 2015., Обидов С.З., 2024.,].

Ведущим механизмом формирования ТЯ нижних конечностей при варикозной болезни является *нарушение микроциркуляции* в дистальных отделах конечностей. Для изменений МЦР при ХВН нижних конечностей характерным является, прежде всего, локальная гипоксия тканей в нижней трети голени, проявляющаяся значительной редукцией парциального напряжения кислорода тканей в зоне ТЯ на фоне низкого функционального резерва микроциркуляции или ишемической депрессии микроциркуляции.

Вместе с тем Р.З. Лосев и др. установили, что изменения МЦР в коже и подкожной клетчатке у пожилых больных с варикозными ТЯ нижних конечностей носят не только локальный характер, но общий, выявляемый в других ее сегментах.

Теория гипоксии основное внимание в образовании ТЯ нижних конечностей уделяет нарушению кислородной перфузии ее тканей [[Альбицкий 2006.,]. Сторонники этой теории полагают, что недостаточность венозных клапанов приводит к депонированию крови парциального давления кислорода в капиллярах кожи. Сниженное содержание кислорода в депонированной крови приводит к гипоксическому повреждению близлежащей кожи.

Фибриновая эксудативная теория связывает патогенез ТЯ с возрастанием венозного давления в нижних конечностях, которое передается на МЦР кожи и повышает проницаемость кожных капилляров [Кияшко В.А. 2003.]. Возросшая проницаемость кожных капилляров позволяет макромолекулам, таким как фибриноген, проникать в перикапиллярные ткани. Дальнейшее превращение фибриногена в фибрин приводит к образованию *фибриновой «манжетки»* вокруг капилляров кожи. По мнению Falanga и соавтор., данная манжетка служит барьером, препятствующим диффузии кислорода, что ведет к тканевой гипоксии и повреждению клеток. Веществами, накапливаемыми в области образующихся фибриновых отложений вокруг капилляров, могут выступать сильнодействующие хемоаттрактанты, а также активаторы лейкоцитов и тромбоцитов. Это приводит к хроническому воспалению, усугубляющему ХВН. Однако в последующем исследованиями Cheatle и соавтор. было показано, что фибриновые манжетки не могут вызвать значимого уменьшения диффузии кислорода.

В последние годы опубликованы работы, в которых основой формирования ТЯ считается *теория лейкоцитарной агрессии*. Ее авторы предлагают схему формирования ТЯ в виде динамического процесса:

(флебогипертензия - лейкоцитарная агрессия -выделение цитокинов и других активных веществ - хроническое воспаление -повреждение тканей). Действительно, при ХВН нижних конечностей был обнаружен феномен активации и эндотелиальной адгезии лейкоцитов с их последующей миграцией в паравазальные ткани. По мнению Косенкова и др., именно фиксированные в капиллярах макрофаги становятся причиной обструкции сосуда, снижения капиллярного кровотока и развития микронекрозов тканей. Дальнейшее проникновение лейкоцитов в подвергшиеся аноксии и ишемии ткани вызывает их патологическую активацию с выделением цитокинов (лейкотриены, тромбоксан, интерлейкины, фактор некроза опухоли). Цитокинины оказывают разнонаправленное действие: 1) усиливают проницаемость сосудистой стенки, способствуя прогрессированию отека нижней конечности, 2) вызывают адгезию форменных элементов крови с образованием лейкоцитарных и тромбоцитарных пробок в микрососудах с последующим формированием тромбов в венозном русле, выделением лизосомальных ферментов, активных радикалов, токсичных метаболитов кислорода. Происходящие процессы еще больше повреждают МЦР, способствуя развитию хронического воспаления, местных и системных аллергических реакций, снижая клеточную пролиферацию и восстановление. Это является причиной длительного заживления ТЯ. Одновременно снижается активность кожных фибробластов: способность к цитокинезу и росту.

Вместе с тем ряд исследователей полагает, что термин «лейкоцитарная агрессия» должен вызывать большие сомнения. По их мнению, лейкоцитарная и макрофагальная реакции принципиально не могут быть названы агрессией. Они должны рассматриваться как реакция защиты, а их несовершенство или побочные действия не дают оснований к смене устоявшихся и справедливых понятий. По данным П.Г. Швальба и др., формирование ТЯ обусловлено длительным венозным стазом и постоянной гидравлической нагрузкой, которые нарушают процессы капиллярной проницаемости. В экстравазальное пространство выходят эритроциты, которые, распадаясь, создают

гемосидероз, происходит выброс крупных белковых молекул и липидных комплексов. Все это, денатурируясь, формирует комплексы, подлежащие резорбции. По биологическим законам она может быть осуществлена только через воспалительную реакцию, в основном через ее клеточную фазу – острую (лейкоцитарную) и хроническую (макрофагальную). Хронизация происходит потому, что факторы, вызывающие этот процесс, не могут быть устранены, пока не устранена венозная недостаточность [Самойлова К.А. 2010.]. Выделение же так называемых токсических веществ в других условиях оказалось бы полезным. Так, выделение макрофагами свободных радикалов кислорода, как и выделение ферментов нейтрофилами, обеспечивает фагоцитоз и защиту организма от бактерий. Если бы лейкоциты не выделяли разрушающие ферменты, они никогда бы не прошли через эндотелий и не выполнили бы свою функцию. Однако наличие иммунных сдвигов и присутствие постоянного фактора, вызывающего и поддерживающего воспаление, ведет к образованию непрерывного каскада периваскулярных клеточных реакций с патологической трансформацией выделяемых при этом веществ [Самойлова К.А. 2010.].

Сторонники *микробной теории* подчеркивают, что бактериальная контаминация и колонизация ТЯ происходит всегда. Установлены различия в микробных спектрах ТЯ при варикозной болезни и при ПТФС нижних конечностей [Богданец Л.И. 2008.]. При варикозной болезни у 75% больных высеваются стафилококки и их комбинации. У 25% пациентов обнаружены грамотрицательные микроорганизмы. При ПТФС процент обнаружения грамотрицательной флоры увеличивается до 41%. Найдено, что микробный спектр зависит и от длительности существования язвы. Так, при сроке существования язвы до года в микробном спектре преобладают сапрофитные или стафилококковые микроорганизмы. При ПТФС и длительных сроках существования язвы высеваются патогенные грамотрицательные бактерии и анаэробы. Тем не менее, воспалительная реакция при ТЯ любых размеров практически никогда не дает возможности развиваться общей хирургической

инфекции, несмотря на присутствие разнообразной микрофлоры. Очевидно, микробы просто вегетируют в язве, как на коже, а присоединение микробного компонента к течению ТЯ имеет значение для поддержания воспаления.

Собственные исследования показали ведущую роль условно-патогенных микроорганизмов семейства *Micrococaceae* в патогенезе и клиническом течении трофических язв. Так, результаты микробиологических исследований показали, что среди 60 больных язвенными поражениями у всех высевался грамм+ хемоорганотрофные факультативно-анаэробные бактерии из семейства *Micrococaceae* – *staphylococcus spp.*, что составило 100%. Тогда как в 2 случаях высевался аспорогенные грам- хемоорганотрофные аэробные бактерии из отряда *Pseudomonas* - синегнойная палочка - 2,2%. [Мавлянова Ш.З., Обидов С.З., Махсудов М.Р., 2023]

По видовой идентификации среди *staphylococcus spp.* наибольшее количество составило выявляемость *st. Aureus* – 38,8% (22), *st.epidermidis* – 26,6% (16) и *st.haemoliticus* – 11,6% (12) соответственно.

Тогда как, с учетом клинических форм язвенных поражений в группе больных с трофической язвой наиболее часто высевались патогенные формы - *S. aureus* и *S. Epidermidis*, а также *S. Haemoliticus*. Следует отметить, что у 8 больных отмечали микст-контаминацию патогенных микроорганизмов: *S. Aureus*+ *S. Saprophyticus*, *S. Aureus*+ *S. Epidermidis* и др. Такая же тенденция отмечалась в группе больных с язвенной пиодермией, где наиболее часто высевался *S. Aureus* и *S. Epidermidis*.

Результаты молекулярно-генетических ПЦР из очагов поражения исследований выявили ДНК гена *mecA* *s.aureus*, что составило 46,6% случаев. При этом наиболее часто выявлялся метициллин чувствительный *st. Aureus* (*MSSA*) - 21,6% и *MRSA* - метициллин резистентный *st. Aureus* – 15%.

Роль *иммунных нарушений* мало изучена. В большинстве имеющихся публикаций системные иммунные сдвиги оцениваются в отрыве от локальных изменений мягких тканей. Вместе с тем Кириенко и др. [26 ст 76-86] выявили взаимосвязь между иммунным статусом, клиникой и течением венозных язв

нижних конечностей, сроками их заживления. Авторы показали, что у больных с ТЯ нижних конечностей венозной этиологии отмечаются выраженные нарушения системного и местного иммунитета, выражающиеся в повышении в крови из локтевой вены содержания Ig G (у 76 % больных), Ig A (у 66 %), Ig E (у 38 %), повышении концентрации циркулирующих иммунных комплексов (у 84 %), увеличение активности, увеличение популяции клеток иммунной системы (моноциты/макрофаги, NK-клетки, нейтрофилы), гиперплазия CD4+45RO+ Т-клеток «памяти» у 64 % больных, усиленная экспрессия молекул CD25 (α -цепь рецептора интерлейкина-2) на CD4+ Т-клетках, увеличение СОЭ у 68 %, С-реактивного белка у 38 %. В то же время в капиллярной крови вблизи язвы отмечено достоверное снижение количества CD16+ 56-NK-клеток, уменьшение числа NKT-клеток, а также CD8+ Т-клеток, имеющих α -цепь рецептора интерлейкина-2 на клеточной мембране [Brown, R.T. et al. 2019., Chandan, K., et al 2020.]. Это свидетельствует об участии данных клеток в патологическом процессе. В то же время иммунологические нарушения были связаны непосредственно с трофическим поражением кожи и не зависели от основного заболевания. Достоверных отличий иммунного статуса в зависимости от продолжительности основного заболевания до первого появления ТЯ выявлено не было, в то же время автор отмечает, что с увеличением продолжительности существования ТЯ повышается спонтанная хемилюминесцентная активность нейтрофилов.

Исследование некоторых показателей цитокинового статуса (про- ИЛ-6 и противовоспалительного – ИЛ-4) у больных язвенными поражениями кожи выявило дисбаланс, характеризующиеся снижением выработки противовоспалительного цитокина ИЛ4 в 1,3 раза и гиперпродукцией провоспалительного цитокина ИЛ-6 в 4,6 раз, обуславливающее хронизации инфильтративно-воспалительного характера поражения кожи.

У больных трофической язвы уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в 1,1 раз был ниже по сравнению с показателями больных

группы хронической язвенной пиодермии (ХЯП) и язвенно-некротическим васкулитом (ЯНВ), свидетельствующее о подавлении противомикробного и противовоспалительной клеточной реакции организма, обуславливающее хроническое и торпидное течение заболеваемости.

Причем уровень провоспалительного цитокина ИЛ-6 наиболее повышался в группе больных с ХЯП по сравнению с показателями больных ЯНВ – в 1,3 раза и в 1,1 раз по сравнению с показателями больных с ТЯ. Однако данный показатель также достоверно повышался в группе больных с ТЯ по сравнению с показателями ЯНВ – в 1,1 раз и в среднем составил $18,7 \pm 0,7$ пг/мл.

Согласно литературы, интерлейкин 4 играет важную биологическую роль, усиливает пролиферацию В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов, а также дифференцировку В-клеток в плазматические клетки.

Интерлейкин 6 - фактор дифференцировки В-клеток, цитологический дифференцирующий фактор Т-клеток. Следует отметить, что основным источником ИЛ-6 являются стимулированные моноциты, макрофаги, фибробласты и эндотелиальные клетки. Повышение уровня ИЛ-6 свидетельствует о воспалительном процессе, поэтому его определение и мониторинг особенно в ранних стадиях заболевания является более чувствительным тестом. [Никулин Б.А. 2008.]. Данное явление свидетельствует о выраженности воспалительного процесса инфильтративного характера. ($P < 0,05$).

Дисбаланс в показателях про-и противовоспалительных цитокинов на наш взгляд связано с длительной персистенцией условно-патогенной флорой в организме больных. Повышение колонизации и выявление генотипов патогенных форм микроорганизмов способствует выработки провоспалительных цитокинов, в частности сказывается на увеличение концентрации ИЛ -6 у больных с ЯПК, что является показателем активации иммунокомпетентных клеток в ответ на бактериальное воспаление.

Корреляционный анализ провоспалительного (ИЛ-6) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов с условно-патогенными микроорганизмами в каждой нозологической форме язвенных поражений кожи выявило достоверные связи с условно-патогенными микроорганизмами при язвенных поражениях кожи. (рис. 1, 2,3)

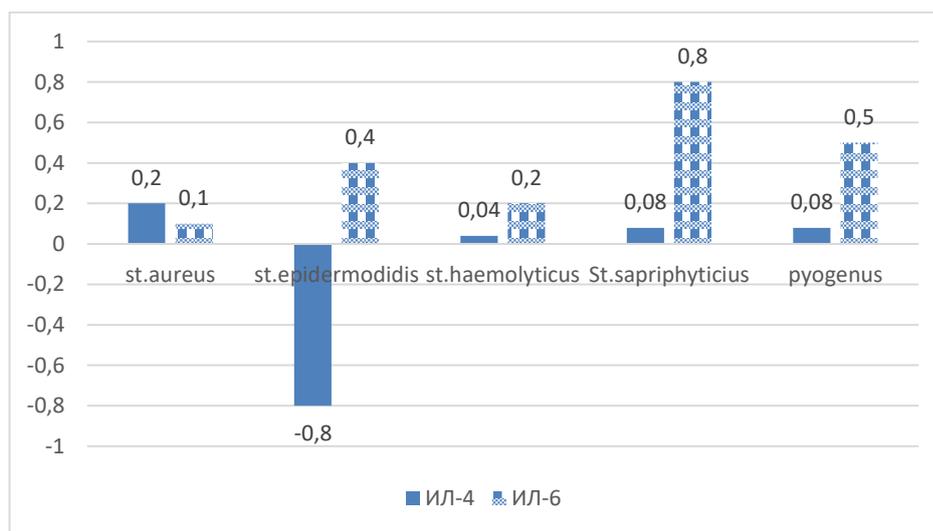


Рис..1. Показатель корреляционной связи про- (ИЛ-6) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов с обсемененностью условно-патогенными микроорганизмами у больных ТЯ. (r)

Как следует из рисунка 1. в группе больных с ТЯ результаты корреляционного анализа провоспалительного цитокина ИЛ-6 и противовоспалительного цитокина ИЛ-4 с обсемененностью условно-патогенными микроорганизмами выявили следующие особенности: так, ИЛ-4 имел достоверную обратную корреляцию с факультативным микроорганизмом *st.epidermididis* - $r=-0,8$ ($P<0,05$). Однако провоспалительный цитокин ИЛ6 имел прямую достоверную корреляцию с *st.epidermididis* - $r=+0,44$, *st.saprophyticus* - $r=+0,8$, *Streptococcus pyogenus* - $r=+0,5$ ($P <0,05$), что является значимым критерием оценки инфильтративно-воспалительного процесса у больных с ТЯ.

На наш взгляд активация цитокинового статуса в сторону повышения провоспалительного цитокина ИЛ-6 в 4,1 раз и понижение уровня

противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в 1,4 раза является ответной реакцией на инфильтративно-воспалительный процесс, обусловленной повышенной колонизацией условно-патогенной флоры *st. Epidermididis*, *st.saprophyticus* и *Streptococcus pyogenus* в очагах поражения, а что также является важным патогенетическим фактором в клиническом течении заболеваемости.

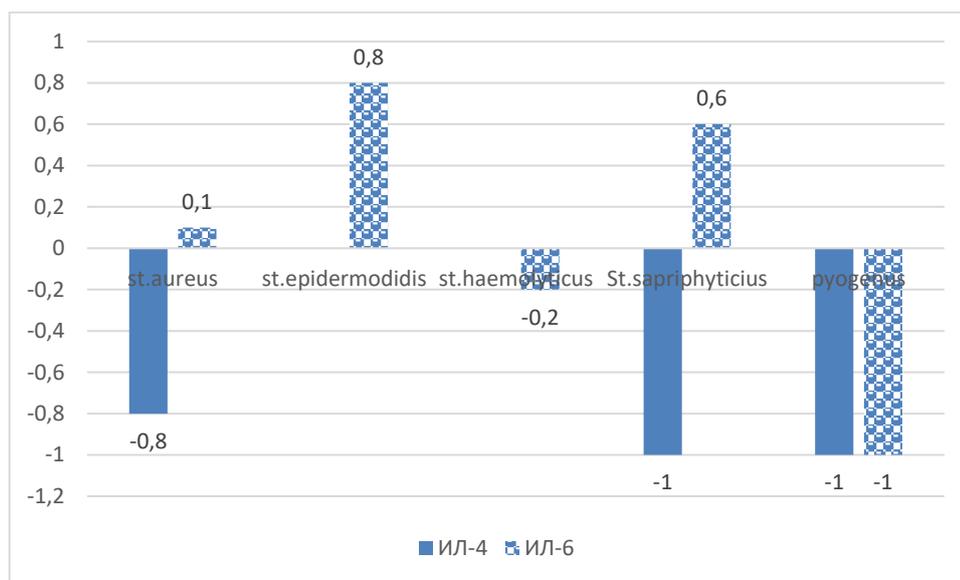


Рис.2. Показатель корреляционной связи про-(ИЛ-6) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов с обсемененностью условно-патогенными микроорганизмами у больных ХЯП (r)

Как следует из рисунка, в группе больных с ХЯП ИЛ-4 имел достоверную обратную корреляцию с ИЛ-4 - $r=-0,8$ ($P<0,05$), *st.saprophyticus* - $r=-1$, *str.pyogenus* - $r=-1$ ($P<0,05$). Тогда как провоспалительный цитокин ИЛ-6 имел положительную корреляционную связь с *st.epidermididis* - $r=+0,8$ и *st.saprophyticus* - $r= +0,6$, что имели статистически достоверный характер. ($P<0,05$). (Рис.2.)

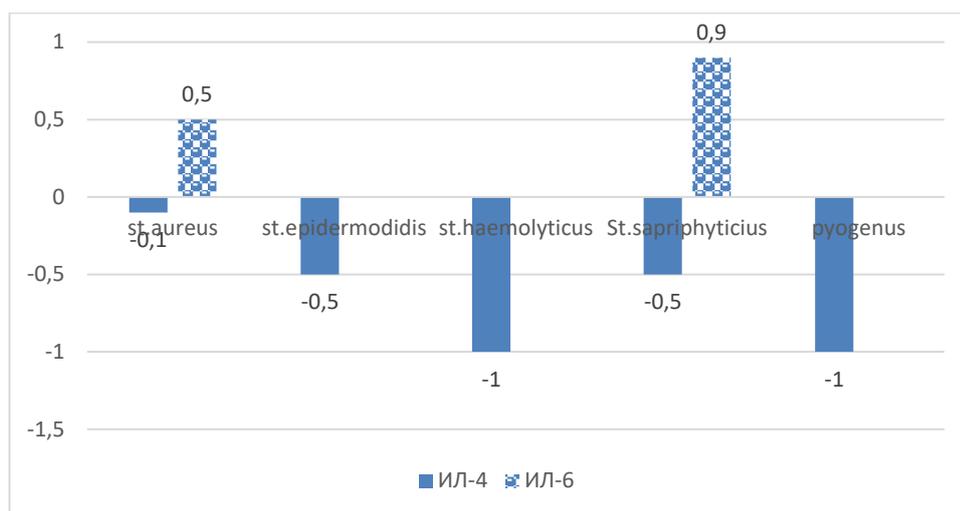


Рис.3. Показатель корреляционной связи про- (ИЛ-6) и противовоспалительного (ИЛ-4) цитокинов с обсемененностью условно-патогенными микроорганизмами у больных ЯНВ. (r)

Тогда как в группе больных с язвенно-некротическим васкулитом ИЛ-4 находился в обратной статистически достоверной корреляционной связи с *st.epidermididis* и *st.saprophyticus* - $r=-0,5$, *St.haemolyticus* – $r=-1$, *str.pyogenus* – $r=-1$ ($P<0,05$) соответственно. ИЛ-6 имел прямую достоверную корреляционную связь с *st.aureus* - $r=+0,5$ и *st.saprophyticus* – $r=+0,9$. ($P<0,05$).

Согласно научным исследованиям провоспалительные цитокины имеют иницирующие свойства воспалительных реакций, обусловленное действием на иммунокомпетентные клетки. (Железникова Г. Ф. 2009). При этом цитокины сыворотки крови выступают в качестве одними из ранних предикторов формирования и тяжести инфекционных процессов и показатели концентрации их могут служить критерием дифференцированного подхода назначаемой противовоспалительной терапии.

Исследованиями последних лет получены сведения о возможной роли *тканевых протеаз (металлопротеаз)* в развитии трофических расстройств при ХВН нижних конечностей [Лосев Р.З., и др 2005.]. Найдено, что синтез матричных металлопротеаз (ММР) и их тканевых ингибиторов (ТИМР) происходит у всех пациентов в зоне нарушенной трофики. Наиболее хорошо изучены ММР-1, ММР-2, ММР-9, ТИМР-1, ТИМР-2. Тем не менее, их

соотношение и роль в патологическом процессе до конца не ясны. Непосредственно вокруг ТЯ синтезируется матричная металлопротеаза-9, а в самих, обычно не заживающих венозных ТЯ обнаружены металлопротеазы 1 и 8. При этом отмечено уменьшение количества ингибитора TIMP-1. Следует подчеркнуть, что, по мнению авторов, изучающих проблему формирования ТЯ нижних конечностей, каждый из описанных механизмов повреждения тканей действует не самостоятельно, а в комплексе с другими, усиливая отрицательное воздействие друг друга [Лосев Р.З., и др 2005.].

В итоге длительного существования хронического воспаления надфасциальных тканей с многократным рецидивированием ТЯ, в дистальных отделах нижних конечностей развивается хронический дермато- или липодерматосклероз [Kraus I, Sabolinski M.L. 2017]. Эластические структуры подкожно-жировой клетчатки и фасции замещаются рубцовой тканью. Мышечно-венозная помпа голени оказывается в соединительно-тканном футляре, значительно ухудшающим ее работу. Формируется так называемый compartment-синдром, усугубляющий прогрессирование трофических изменений, обусловленных недостаточностью перфорантных вен.

Прокальцитонин является одним из показательным критерием системного воспалительного процесса в организме больного, являющиеся предшественником гормона кальцитонина и синтезируется С –клетками и более чувствительным маркером воспалительного процесса. Исследованиями выявлено, что у больных с наиболее высоким уровнем прокальцитонина в дальнейшем развивались инфекционные осложнения, в том числе сепсис и септический шок. В норме его синтез происходит в С-клетках щитовидной железы. Концентрация PCT в плазме крови повышается пропорционально тяжести инфекционного процесса. [Полякова А.С., Бакрадзе М.Д., и соавтр. 2017].

У больных с ЯПК отмечается повышение уровня прокальцитонина в 1,3 раза по сравнению с контрольной здоровой группой и в среднем составил $0,13 \pm 0,006$ нг/мл и имели не достоверный характер. Однако находились в

достоверной прямой корреляционной связи с *st.aureus* – $r=+0,8$ и обратной корреляции с *st. epidermididis* - $r=-0,9$ и *st.saprophyticus* – $r=-0,3$ соответственно.

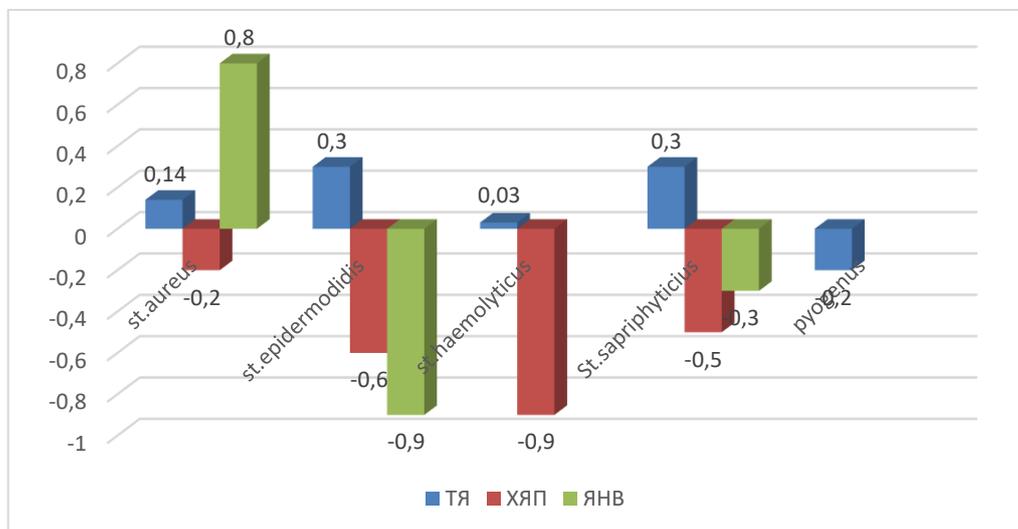


Рис.4. Характеристика корреляционной связи уровня прокальцитонина с обсемененностью условно-патогенными микроорганизмами. (r)

Результаты ИФА исследования цитокинового статуса выявили о несостоятельности в выработки про-и противовоспалительных цитокинов, характеризующиеся повышением ФНО-альфа и ИЛ-6 в 2,3 и 2,4 раза по сравнению с показателями здоровых лиц ($P < 0,05$). (таблица 1)

Таблица 1. Показатели про – ФНО-альфа, ИЛ-4 и противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 в сыворотке крови у больных с язвенными поражениями кожи. (пг/мл)

группа	ФНО -альфа	ИЛ-6	ИЛ-4	ИЛ-10
здоровые n=39	5,2± 0,03	4,6 ± 0,8	4,2±0,08	5,5 ± 0,13
Больные с ТЯ n=44	12,1± 0,3*	11,4 ± 0,2*	2,01±0,03*	3,1 ± 0,2*

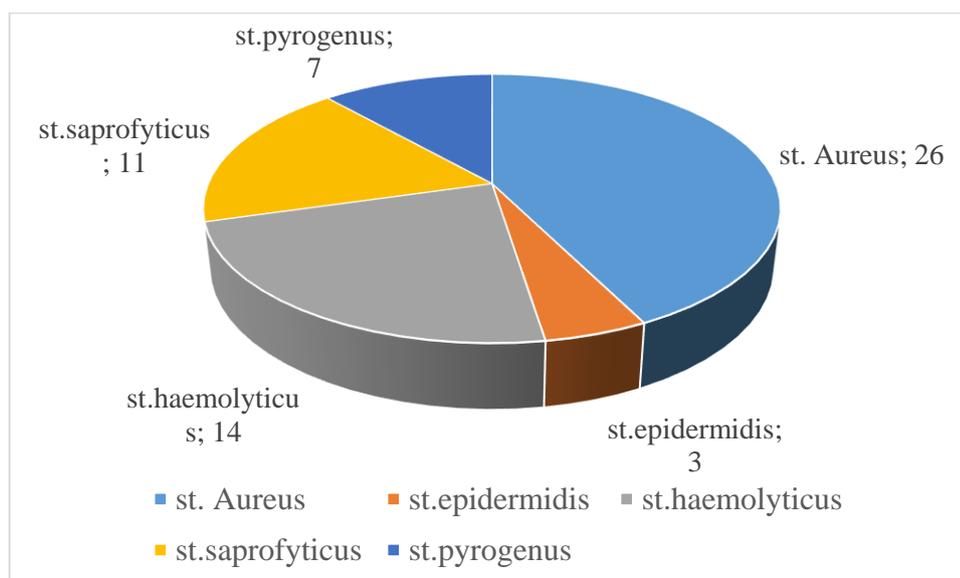
Примечание: * достоверность по отношению к показателям здоровых лиц. ($P < 0,05$)

Как следует из таблицы, уровень противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 в 2,1 и 1,7 раз были ниже по сравнению с показателями здоровых лиц и в среднем составили уровень $2,01 \pm 0,03$ пг/мл и $3,1 \pm 0,2$ пг/мл соответственно.

Полученные результаты свидетельствует о дисбалансе в цитокиновом статусе, характеризующиеся неконтролируемой гиперпродукцией провоспалительных цитокинов - ФНО-альфа и ИЛ-6 и снижением функциональной деятельности противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10.

Повышение провоспалительного цитокинов ФНО-альфа и ИЛ-6 на наш взгляд связан ответом на выделяемые из микроорганизмов микробных компонентов - эндотоксина или липополисахарида (ЛПС). Воздействуя на эндотелий кровеносных сосудов участвуют в миграции лейкоцитов в ткани, что сопровождается инфильтративным повреждением тканевой поверхности.

Так, результаты микробиологических исследований очагов поражения кожи у больных выявили повышенную выявляемость патогенных форм условно-патогенных микроорганизмов *staphylococcus spp.* с высокой обсемененностью. (рис.1., таблица 1)



Как следует из рисунка, среди патогенных форм наиболее часто выделяли *st.aureus* - у 26 (59,1%), *st.haemolyticus* – у 14 ((31,8%) , *st.saprophyticus* – у 11 (25%) . Тогда как среди 36 здоровых контрольных лиц только у 4 выделили *st.epidermidis*, что составило 11,1% случаев. Причем уровень колонизации *staphylococcus spp.* в среднем составило $76,9 \pm 1,3$ КОЕ/г.

Таблица 1. Показатель колонизации *staphylococcus spp.* на коже очагов поражения у больных ЯПК (КОЕ/г)

	<i>staphylococcus spp.</i> (КОЕ/г)
Больные n=44	$76,9 \pm 1,3$
Контроль здоровые n= 36	до 8

Примечание: * - показатель достоверности по отношению к группе контрольных здоровых лиц (P <0,05)

Для оценки степени бактериальной инфекции у больных ЯПК нами проведены исследования уровня прокальцитонина в крови. (таблица 2)

Таблица 2. Сравнительная характеристика уровня прокальцитонина у больных с язвенными поражениями кожи с показателями здоровых лиц. (M±m) нг/мл

Группа больных	Больные с ЯПК n=44	Здоровая группа n=23
Прокальцитонин	0,3±0,01*	0,1006±0,0002

Примечание: * показатель достоверности по отношению к здоровым лицам (P <0,05)

Результаты ИФЛА исследования показали, что у больных ЯПК отмечается повышения уровня прокальцитонина по сравнению с показателями контрольных лиц. (P<0,05)

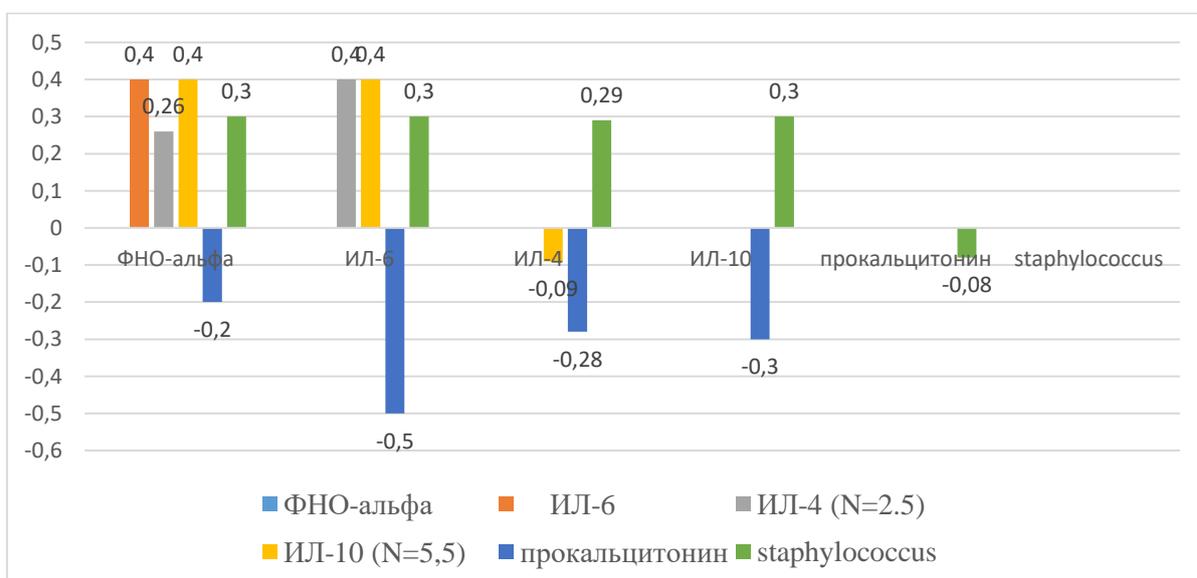


Рис.2. Корреляционный анализ показателей цитокинового статуса и прокальцитонина и staphylococcus spp. (r)

Как следует из рисунка, корреляционный анализ результатов исследования показали, что уровень прокальцитонина имел достоверную обратную корреляцию с ИЛ-6 – r=-0,5, ИЛ-4 – r=- 0,28, ИЛ-10 – r=- 0,3 (P<0,05), повышенная колонизация staphylococcus spp. имел прямую корреляцию с про- и противовоспалительными цитокинами - r =+0,3 (P <0,05) соответственно.

Анализ полученных результатов свидетельствует о выраженности воспалительного процесса, характеризующегося нарушением выработки про- и противовоспалительных цитокинов, которые непосредственно участвуют в усилении проницаемости сосудистой стенки, адгезии форменных элементов крови с образованием лейкоцитарных и тромбоцитарных пробок, выделением лизосомальных ферментов, активных радикалов, токсичных метаболитов кислорода. Происходящие процессы являются благоприятным условием для размножения патогенных форм бактериальной флоры и повышением уровня прокальцитонина, способствуя развитию хронического воспаления и цитокинеза, снижения активности выработки кожных фибробластов.

2. Роль генов эндотелиальной системы в патогенезе язвенных поражений кожи

2.1. К результатам выявляемости аллельных вариантов и ассоциации полиморфизмов генотипов (rs1800790) G-455A гена FGB у больных с язвенными поражениями кожи.

В дерматологической науке на протяжении многих десятилетий язвенные поражения кожи находятся в центре пристального внимания клиницистов и специалистов, работающих в различных отраслях фундаментальной медицины [Кириенко А.И. и др 2007; Ширинбекова. Н.В., Ларионова В. И. 2013; Мавлянова Н.Н., Бобоев К.Т. 2018]. До сих пор отсутствует единой концепции патогенеза, особенно трофических язв (ТЯ). Около 1-2% трудоспособного населения развитых стран страдает этой патологией, среди лиц старше 70 лет — это соотношение достигает 5-7% [Ширинбекова. Н.В., Ларионова В. И. 2013]. ТЯ чаще встречаются в возрасте от 30 до 77 лет. Женщины страдают в 2-3 раза чаще мужчин в соотношении 2:1 или 3,5: 1.

В развитии язвенных поражений кожи особую роль представляет сосудистая система, в основе которых могут быть проявления артериальной

патологии, микроциркуляторных и нейротрофических нарушений, хронической травмы и нарушений углеводного обмена. При этом наиболее значимую когорту составляет фактор хронической венозной недостаточности (ХВН), в частности при варикозной болезни или посттромбофлебитическом синдроме (ПТФС), а остальные нозологии распределены примерно следующим образом: язвы, образовавшиеся в результате критической ишемии – 14%, смешанного генеза – 13%, диабетические – 5%, (среди больных сахарным диабетом число лиц, имеющих язвенные дефекты стоп, достигает 15%), нейротрофические – 1%, 15% заболевших страдают рецидивирующими и декомпенсированными формами с выраженными трофическими нарушениями кожи.

Следует сказать, что эндотелий – это тип эпителия, который выстилает внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов, который выполняет ряд важных функций, включающих регуляцию тонуса и проницаемости сосудов, их роста и регенерации, гемостаза, иммунных реакций и т.д.

Перечисленные функции реализуются путем продукции различных паракринных факторов, в том числе:

- регулирующих тонус сосудов: эндотелиальный фактор релаксации (EDRF), эндотелиальный фактор контракции (EDCF), эндотелиальный гиперполяризующий фактор (EDHF); медиаторов воспаления: молекула межклеточной адгезии 1 типа (ICAM-1), молекула адгезии сосудистых клеток 1 типа (VCAM-1), ядерный фактор каппа-B (NF-κB); факторов роста: фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и трансформирующий фактор роста β (TGF-β). [Чур Н. Н., Гришин И. Н., Чур С. Н. 2008; Ширинбекова. Н.В., Ларионова В. И. 2013].

В этом аспекте изучение генетических маркеров в механизме развития язвенных поражений кожи с учетом оценки эндотелиальной дисфункции, связанное с изменением уровня фибриногена в крови представляет особый интерес.

Целью исследования явилось оценка выявляемости аллельных вариантов и генотипов ассоциации полиморфизма гена гемостаза и фибринолиза - FGB у больных с язвенными поражениями кожи.

Нами обследованы 45 больных с язвенными поражениями кожи в возрасте от 1 года до 70 лет. Среди них лица мужского пола составили - 17 и женского – 28 больных. У всех больных проводили клинико-лабораторные, микробиологические, молекулярно-генетические и статистические исследования. Все больные консультировались смежными специалистами (терапевт, невропатолог, инфекционист, эндокринолог, хирург и др.) Контрольную группу составили 33 здоровых лиц в соответствующем возрасте без каких-либо кожных заболеваний.

Генотипирование полиморфизма G/A, гена FGB проводили на ПЦР амплификаторе в реальном времени Rotor Gene 6000 Модель 65H0-100.

По клинической формы среди 45 больных у 15 (33,3%) диагностирован язвенно-некротический васкулит (ЯНВ), трофическая язва (ТЯ) – у 13 (28,8%) и хроническая язвенная пиодермия (ХЯП) – у 17, что составило 37,7% случаев.

По возрасту до 18 лет составили - 3 больных (6,6%), 19-30 лет – 7 (15,5%), 31-40 лет – 6 (6,6%), 41-50 лет - 8 (17,7%) и старше 50 лет – 21 , что составило 46,5% соответственно. С учетом пола больных возрастные аспекты имели следующий характер. (рис 2.1).

Как следует из рисунка среди 45 обследованных больных наибольшее количество составили в возрасте старше 50 лет 21 пациентов, причем с учетом пола заболеваемость наиболее часто диагностировался у лиц женского пола - 13 (61,9%) соответственно.

Следует отметить, что ЯПК также часто диагностировались у лиц женского пола в активно-трудоспособном возрастах – 31-40 лет и 41-50 лет - 9 из 14, что составило 64,3% случаев. Полученные данные важное социальное значение, что требует пристального внимания.

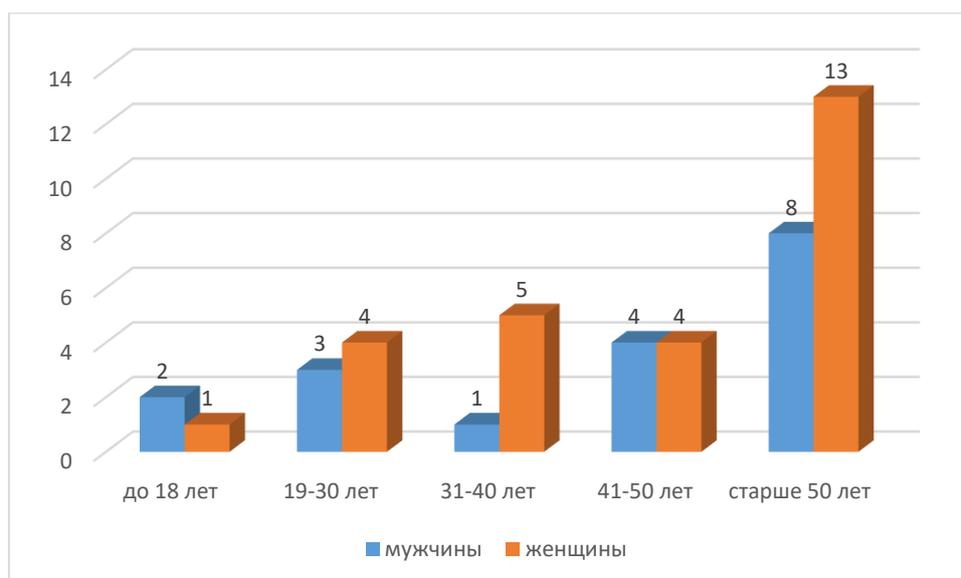


Рис.2.1. Возрастной аспект больных с учетом пола (абс)

Результаты молекулярно-генетических исследований распределения полиморфизма гена фермента *Pe 105Val* гена *FGV* у больных с язвенными поражениями кожи (ЯПК) и контрольной здоровой группы. (таблица 2. 1).

Таблица 2.1. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма (rs1800790) G-455A гена *FGV* в группах больных с ЯПК и контрольной здоровой группы.

№	Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
		G		A		G/G		A/G		A/A	
		*n	%	*n	%	n	%	n	%	n	%
1.	Основная группа больных ЯПК n= 45 (90)	74	82,2	16	17,7	33	73,3	8	17,7	4	8,8

2	Контрольная группа здоровых лиц n=33 (66)	64	96,9	2	3,03	31	93,9	2	6,1	0	0.0
---	--	----	------	---	------	----	------	---	-----	---	-----

n – число обследованных пациентов; *n - число исследованных хромосом

Как видно из таблицы, сравнительный анализ частот распределения аллелей и генотипов полиморфизма G-455A гена фибринолиза FGB показал, что в основной группе больных с ЯПК в крови среди 90 образцов ДНК наличие нормального аллеля G составил - 82,2% (74/90) ($\chi^2=8,11$; $P=0,004$; $OR=0,14$; 95% CI 0,03-0,65), тогда неблагоприятный аллель A - 17,7% (16/90) случаев – соответственно. ($\chi^2=8,11$; $P=0,004$; $OR=6,92$; 95% CI 1,53-31,24)

Тогда как, в контрольной группе у 33 здоровых лиц частота встречаемости нормального аллеля G гена FGB составило 96,9% (64/66), а мутантного аллеля A гена FGB составило - 3,03 % (2/66) соответственно. (таблица 2.2)

Таблица 2.2. Показатели различия в частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма (rs1800790) G-455A гена FGB в основной группе больных с ЯПК и контрольной здоровых лиц .

Аллели и генотипы	Количество обследованных аллелей и генотипов		Статистическое различие
	Основная группа	Контроль	
Аллель G	74	64	

Аллель А	16	2	$\chi^2=8,11$; $P=0,004$; $OR=6,92$; 95% CI 1,53-31,24
Генотип G/G	33	31	$\chi^2=5,9$; $P<0,05$; $OR=0,18$; 95% CI 0,04-0,86
Генотип G/A	8	2	$\chi^2=5,96$; $P<0,05$; $OR=3,35$; 95% CI 0,66-16,96
Генотип A/A	4	0	$\chi^2=5,96$; $P<0,05$; $OR=7,27$; 95% CI 0,38-139,79

Анализ распределения ассоциации полиморфизма генотипов данного полиморфизма G-455A гена фибринолиза FGB также выявило достоверные отличия между основной группой больных с ЯПК и контрольной здоровой группой ($P<0,05$). Так, ассоциация полиморфизма функциональных G/G генотипов были составило 63,3% (33/45) случаев. ($\chi^2=5,96$; $P=0,05$; $OR=0,18$; 95% CI 0,04-0,86)

Тогда как, гетерозиготные генотипы G/A гена FGB выявлены у 8 из 45 больных, что составило 17,7 % соответственно. ($\chi^2=5,96$; $P<0,05$; $OR=3,35$; 95%CI 0,66-16,96). Мутантные генотипы A/A определены у 4/45, что составило 8,8% случаев. ($\chi^2=15,8$; $P=0,005$; $OR=9,8$; 95% CI 0,5-184,5)

В группе контрольной здоровых лиц выявляемость функционирующих генотипов G/G выявлено у 31 из 33, что составило 96,9%, тогда как гетерозиготных генотипов G/A - у 2 из 33 и составило 6,1%, что в 2,7 раз был ниже по сравнению с показателями основной группы больных с АП. Мутантные гомозиготные генотипы A/A гена FGB в обеих обследуемых группах не обнаружено.

Согласно коэффициенту соотношения шансов, риск развития язвенных поражений кожи в основной группе больных при наличии полиморфизма G /A

(rs1800790) G-455A гена FGB в 3,35 раза выше по сравнению с контрольной здоровой группой. ($\chi^2=5.96$; $P<0.05$; $OR=3.35$; $95\%CI$ 0.66-16.96)

Таким образом, результаты молекулярно-генетических исследований показали значимую связь с неблагоприятным вариантом аллеля «А» полиморфизма (rs1800790) G-455A гена FGB с развитием язвенных поражений кожи. Установлено, что риск развития ЯПК в случае наличия в геноме вариантного аллеля А полиморфизма увеличивается в 6,9 раз ($OR=6,9$).

Согласно литературным данным, популяционная частота встречаемости различных аллельных вариантов и генотипов полиморфных генов могут быть непостоянной величиной, так как находится под влиянием различных динамических факторов, участвующие в создании генетической структуры популяции. При этом важность представляется оценка ожидаемой и наблюдаемой частоты генотипов изучаемых полиморфных генов, потенциально ассоциированных с развитием и патогенезом заболеваний, что можно определить в соответствии распределения частот *равновесию Харди-Вайнберга (ХВ)*. (таблица 2.3, 2.4)

Таблица 2.3. Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизма (rs1800790) G-455A гена FGB по РХВ в группе больных с

ЯПК

Генотипы	Частота генотипов		χ^2	P
	Наблюдаемая	Ожидаемая		
G/G	73,33	67,6	0,218	0,08
G/A	17,8	29,23	2,02	
A/A	8,9	3.16	4,67	
Всего	1,00	1,00	6,911	

Как следует из таблицы, показатели частоты распределения генотипов по РХВ полиморфизма G-455A гена FGB в основной группе больных с ЯПК показали, что наблюдаемая частота функциональных генотипов G/G встречалась в 73,33%, что в 1,1 раз превышал показателей ожидаемых – 67,6%, тогда как наблюдаемые гетерозиготные генотипы G/A определились – в 17,8%, а ожидаемые – 29,23%, что в 1,6 раз превышал показателей наблюдаемых, и наблюдаемые мутантные гомозиготные генотипы – A/A – встречались – в 8,9%, что в 2,8 раз превышал показателей ожидаемых частот, которые составили – 3,16% соответственно. ($P < 0,05$) Для G-455A гена FGB в группе больных с ЯПК эмпирическое (H_{obs}) распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому (H_{exp}) при РХВ ($p < 0,05$).

Таблица 2. 4. Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизма G-455A гена FGB по РХВ в группе здоровых лиц

Генотипы	Частота генотипов		χ^2	P
	<i>Наблюдаемая</i>	<i>Ожидаемая</i>		
G/G	93,9	94,03	0,0	0.85
G/A	6,06	5,8	0,002	
A/A	0	0,09	0,03	
Всего	100,00	100,00	0,032	

Тогда как в контрольной здоровой группе, наблюдаемая частота генотипов G/G встречалась в 93,9% случаев, а ожидаемая частота генотипов – 94,03%, тогда как частота наблюдаемых гетерозиготных генотипов G/A встречалась – в 6,06% и ожидаемая – 5,8 случаев соответственно, а

1.	Больные с трофическим язвам n= 13 (26)	10	76,9	2	15,4	1	7,7
2	Язвенно-некротический васкулит n= 15 (30)	11	73,3	3	20	1	6,6
3	Хроническая язвенная пиодермия n= 17 (34)	12	70,6	3	17,6	2	11,7
	Контрольная группа здоровых лиц n=33 (66)	31	93,9	2	6,1	0	0.0

n –число обследованных пациентов;

Как следует из таблицы, в группе больных с ТЯ гетерозиготный вариант генотипов гена FGB встречался в 15,4% (2/13) ($\chi^2=3.63; P<0.06; OR=2.82; 95\%CI 0.35 - 22.49$), у больных с ЯНВ - 20% (3/15) ($\chi^2=4.61; P<0.03; OR=3.88 ; 95\%CI 0.57 - 26.15$) и у больных с ХЯП – 17,6% (3/17) ($\chi^2=6.08; P<0.01; OR=3.32 ; 95\%CI 0.50 - 22.15$) соответственно. Мутантные гомозиготные генотипы А/А у больных ТЯ составили 7,7% (1/13), ЯНВ – 6,6% (1/15) и ХЯП – 11,7% (2/17) соответственно.

Таким образом, результаты генетических исследований показали достоверную связь аллеля «А» и гетерозиготного генотипа G/A полиморфизма G455A (rs1695) гена FGB с механизмом развития язвенных очагов поражений кожи. Тогда как благоприятный вариант аллеля «G» полиморфизма G455A (rs1695) гена FGB имеет протективную связь с развитием ЯПК.

Анализ результатов молекулярно-генетических исследований свидетельствует о том, что аллель А и гетерозиготные генотипы полиморфизма G/A гена FGB являются значимыми молекулярно-генетическими маркерами риска развития язвенных поражений кожи у лиц узбекской популяции ($P < 0,05$), что можно использовать для раннего прогнозирования заболеваемости. ($\chi^2 = 5.96; P < 0.05; OR = 3.35; 95\% CI 0.66-16.96; \chi^2 = 5.96; P < 0.05; OR = 7,27; 95\% CI 0.38-139.79$)

2.2. Анализ выявляемости аллельных вариантов и ассоциации полиморфизма генотипов гена серпин 1 (PAI-1) 675(rs 1799768) 5G>4G у больных с язвенными поражениями кожи.

Принимая во внимание приоритетность эндотелиальной дисфункции в генезе язвенных поражений как основного диагностического признака заболевания нам представился большой интерес исследования генетических аспектов сосудистой системы в патогенезе заболеваемости.

Целью наших исследований явилось исследование распределения аллельных вариантов и ассоциации полиморфизма генотипов 5G/4G гена «сосудистой системы» – серпин 1 (PAI-1) 675(rs 1799768) 5G>4G у больных с язвенными поражениями кожи.

Обследованы 45 больных в возрасте от 1 года до 69 лет. По клинической формы среди 45 больных у 15 (33,3%) диагностирован язвенно-некротический васкулит (ЯНВ), трофическая язва (ТЯ) – у 13 (28,8%) и хроническая язвенная пиодермия (ХЯП) – у 17, что составило 37,7% случаев.

У всех больных проводили клинико-лабораторные, микробиологические, молекулярно-генетические и статистические исследования. Все больные консультировались смежными специалистами (терапевт, невропатолог, инфекционист, эндокринолог, хирург и др.) Контрольную группу составили 33 здоровых лиц в соответствующем возрасте без каких-либо кожных заболеваний.

Генотипирование полиморфизма 5G/4G гена PAI-1 проводили на ПЦР амплификаторе в реальном времени Rotor Gene 6000 Модель 65H0-100 (Австралия), с использованием тест-системы компании «Синтол».

Анализ результатов молекулярно-генетических исследований гена PAI-1 проводили с учетом оценки аллельных вариантов и ассоциации полиморфизма генотипов и данные представлены в таблице 2.2.1.

Таблица 2.2.1. Частота распределения генотипов полиморфизма гена PAI1 5G/4G в группах больных с язвенными поражениями кожи и здоровых лиц

Группы		Частота аллелей				Частота распределение генотипов					
		5G		4G		5G/5G		4G/5G		4G/4G	
		n*	%	n*	%	n	%	n	%	n	%
1	Основная группа n=45 (90)	65	72,2	25	27,7	26	57,7	13	28,8	6	13,3
2	Контроль n=34 (68)	65	95.6	3	4.4	31	91.2	3	8.8	0	

Примечание: n – число обследованных пациентов ; *n - число исследованных хромосом

Как видно из таблицы, распределение аллелей и генотипов 5G/4G гена PAI-1 в группе здоровых лиц и у больных с ЯПК достоверно отличались. ($P < 0,05$) Так, в группе контрольных здоровых функциональный аллель 5G составил 95,6% (65/68), а в группе больных с ЯПК - составил 72,2% (65/90), что в 1,3 раза был ниже по сравнению с контрольной группой. ($\chi^2=14,5$; $P=0.0001$; $OR=0.12$; 95% CI 0.03 – 0.42). Тогда как мутантный аллель 4G у больных ЯПК определялся в 27,7% (25/90) и в 6,3 раза преобладал по

сравнению с показателями здоровых лиц – 4,4% (3/68). ($\chi^2=14.5$; $P=0,0001$; $OR=8,3$; 95% CI 2,4 – 28,9).

Частота распределения функциональных генотипов 5G/5G в основной группе больных с ЯПК составила в 57,57% (26/45), а в контрольной группе здоровых лиц 5G/5G генотип составил - 91,2% (31/34), что в 1,6 раз превышал показателей основной группы больных. ($\chi^2=11.4$; $P=0.003$; $OR=0.13$; 95% CI 0.04 – 0.50) Гетерозиготный вариант генотипов 5G/4G гена PAI-1 в основной группе составил 28,8% (13/45) и превышал в 3,6 раза показателей контрольных здоровых лиц и составил – 8,8% (3/34) соответственно. ($\chi^2=11,4$; $P=0.003$; $OR=4,2$; 95% CI 1,09 – 16,18).

Тогда, как мутантный гомозиготный генотип 4G/4G гена PAI-1 в основной группе определился – в 13,3% (6/45), а в контрольной группе здоровых лиц не определялся. ($\chi^2=11,4$; $P=0,003$; $OR=11.35$; 95% CI 0,62-208,9). Полученные данные являются статистически достоверными.

Результаты исследования свидетельствует о том, что гетерозиготный 5G/4G и гомозиготный 4G/4G мутантный генотип преобладал у больных ЯПК. Высокая популяционная частота генотипа 5G/4G в основной группе с ЯПК отмечалось в пользу неблагоприятного аллеля 4G.

Таким образом, данные нашего исследования показали связь неблагоприятного вариантного аллеля «4G» полиморфизма rs 1799768 гена PAI-1 с механизмом развития язвенных поражений кожи. Нами было установлено, что риск развития язвенных поражений кожи в случае наличия в геноме вариантного аллеля 4G полиморфизма увеличен в 8,3раз ($OR=8,3$).

Полученный результат также указывает на то, что гомозиготный мутантный вариант 4G/4G генотипов полиморфизма rs 1799768 гена PAI-1 является генетической детерминантной ($OR=11,4$), определяющей формирование язвенных поражений кожи, а носительство генотипа 5G/4G – фактором предрасположенности к развитию данной патологии, повышающей ее риск в 3,2 раз ($OR=4,2$).

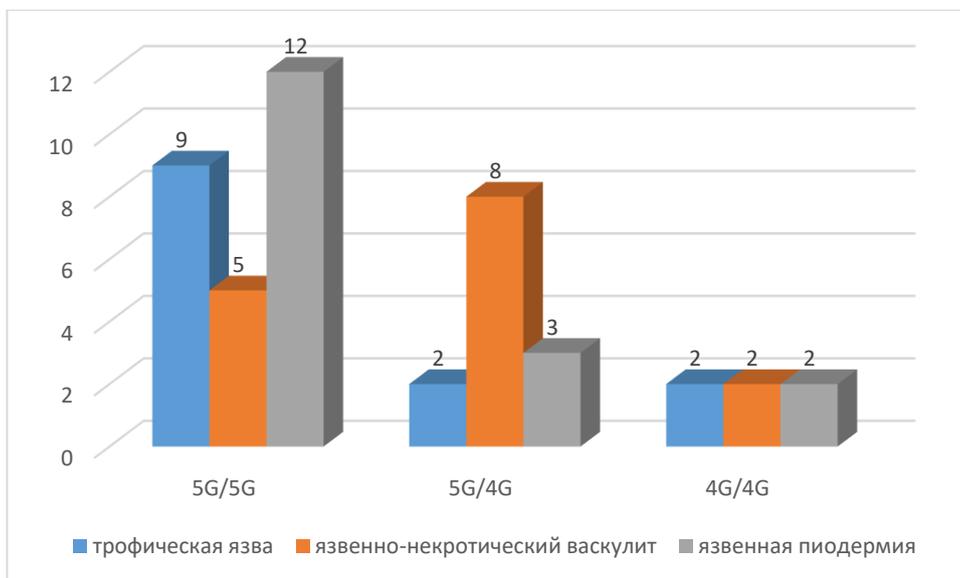


Рис.2.2.1. Показатель выявляемости ассоциации полиморфизма генотипов гена PAI1 с учетом клинической формы ЯПК. (абс)

Как следует из рисунка, в группе больных с трофическими язвами гетерозиготный 5G/4G и гомозиготный мутантный 4G/4G вариант генотипов выявлялся у 2 из 13 соответственно ($\chi^2=6.14$; $P=0.02$; $OR=1.88$; 95% 0.28 – 12.78; $\chi^2=6.14$; $P=0.02$; $OR=15.00$; 95% 0.67 – 335.95;). Тогда как в группе больных с язвенно-некротическим васкулитом наиболее часто выделялся мутантный гомозиготный вариант генотипа 5G/4G гена, что составило 53,3% (8/15) ($\chi^2=17.93$; $P=0.00002$; $OR=11.81$; 95% 2.48 – 56.20) , а в группе больных хронической язвенной пиодермии в 17,6% (3/17) выявляли гетерозиготный вариант 5G/4G ($\chi^2=5,03$; $P=0.03$; $OR=2.21$; 95% 0.40 – 12.37) соответственно.

Распределение аллелей и генотипов по полиморфизму 5G/4G гена PAI-1 в популяционной выборке и в группе больных ЯПК проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (РХВ). (таблица 2.2.2).

Таблица 2.2.2. Ожидаемая и наблюдаемая частота распределения генотипов по РХВ полиморфизма 5G/4G гена PAI в группах контрольных здоровых лиц:

Генотипы	частота генотипов		χ^2	Р
	Наблюдаемая	ожидаемая		
5G/5G	91,2	91,37	0	0,78
5G/4G	8,82	8,43	0,006	
4G/4G	0	0,19	0,066	
Всего	100,00	100,00	0,072	

В контрольной группе здоровых лиц наблюдаемая частота выявляемости благоприятных 5G/5G генотипов гена PAI1 составило 91,2% , а ожидаемая – 91,37%, гетерозиготный вариант 5G/4G наблюдаемой частоты составило - 8,82%, а ожидаемой – 8,43% , тогда как ожидаемой частоты мутантного гомозиготного 4G/4G генотипа составило 0,19% случаев соответственно.

Таблица 2.2.3. Ожидаемая и наблюдаемая частота распределения генотипов по РХВ полиморфизма 5G/4G гена PAI1 в группах больных с ЯПК :

Генотипы	частота генотипов		χ^2	Р
	Наблюдаемая	ожидаемая		
5G/5G	57,8	52,2	0,272	0,06
5G/4G	28,9	40,1	1,416	
4G/4G	13,3	7,7	1,840	
Всего	100,00	100,00	3,528	

Согласно таблице, в группе больных ЯПК наблюдается увеличение частоты ожидаемого неблагоприятного гетерозиготного варианта 5G/4G гена PAI в основной группе в 1,4 раза по сравнению наблюдаемой частоты и в среднем составили – 40,1% против 28,9% соответственно.

С учетом соответствия наблюдаемой доли генотипов полиморфизма rs 1799768 гена PAI-1 в изучаемых выборках равновесию Харди-Вайнберга, проведенное нами исследование свидетельствует о связи функционально неблагоприятного аллеля «4G» с развитием язвенных поражений кожи. При этом, риск развития АП в случае наличия в геноме вариантного аллеля 4G полиморфизма гена PAI-1 увеличивается в 8,3 раза (OR=8,3).

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что распределение частот генотипов данного полиморфизма выявило достоверные отличия между основной группой и группой сравнения в общей выборке ($P < 0.05$). Выявлены ассоциации «функционально неблагоприятных» генотипов 5G/4G ($\chi^2 = 11,4; P < 0.003; OR = 4,2; 95\% CI 1,09-16,18$) и 4G/4G ($\chi^2 = 11,4; P < 0.003; OR = 11,35; 95\% CI 0,62- 208,9$) с развитием язвенных поражений кожи.

Также нами показано, что гетерозиготный генотип полиморфизма 1799768 гена PAI-1 является генетической детерминантой, определяющей формирование язвенных поражений кожи, а его носительство – фактором предрасположенности к развитию данной патологии, повышающей ее риск в 3,3 раз (OR=4,2).

Таким образом, аллель 4G и гетеро/гомозиготные генотипы полиморфизма 5G/4G гена PAI являются значимыми маркерами повышенного риска развития язвенных поражений кожи у пациентов узбекской популяции ($P < 0.05$). Аллель 5G и функционально благоприятный генотип 5G/5G являются достоверными протективными маркерами в отношении развития патологии ($\chi^2 = 11,4; P < 0.003; OR = 11,3495\% CI 0,62-208,9$).

3. К клинической классификации трофических язв

Существует несколько различных классификаций трофических язв, предложенных разными учеными. Авторами предложены (Поповым И. С. 1947, Фаерманом И. Ф., 1961, Савицким В. И., 1971) предложены морфологические классификации, выделяющие различные степени поражения кожи и подлежащих мягких тканей в зависимости от тяжести ХВН. Тогда как другими учеными (Гнилорыбовым Т. Е. (1948), Грубером Л. В. (1948), Акуловой Р.Ф. (1953), Руфановым И. Г. (1954), Никитиным Г. Д. и Карташовым И. П. (1968), Григоряном А.В., Гостищевым В.К., Толстых П.И. (1972), Сащиковой В. Г. (1995) предлагается - различные варианты этиологических классификаций с учетом эндогенных факторов (поражение сосудов, нервов, опухоли, системные заболевания), так и экзогенных - (различные травмы, повреждения).

Так, Синявский М. М. (1973) предлагает выделять субварикозные, суправарикозные, параварикозные, посттромбофлебитические и тромботические язвы, а Аскерханов Р. П. (1973) - варикозные, фунгозные, геморрагические, торпидные язвы голени.

Однако, для язв голени, развитие которых обусловлено сочетанным поражением вен и артерий нижних конечностей, нет единой точки зрения в вопросе терминологии: «смешанные», «ulcer of the lower limb with mixed arterio-venous pathology», «combined arterial and venous disease», «mixed arterial and venous disease», «combined arterial and venous insufficiency (CAVI)», «mixed ulcers with combined arterial and venous insufficiency», «mixed arterial and venous leg ulcers», «mixed arterial/venous ulcers», «venous leg ulcers with arterial compromise».

Классификация трофических язв нижних конечностей по причинам возникновения (по Васюткову и В.Я., Проценко Н.В., 1993), где авторы предлагают характеристику с учетом локализации патологического процесса, этиопатогенетических факторов, по фазам клинического течения, с учетом осложнений. (таблица 3.1.)

Таблица 3.1. Клиническая классификация трофических язв

Причина возникновения	Классификация
Язвы, обусловленные ХВН нижних конечностей	1. ПТФБ; 2. ВБ; 3. при синдроме перевязанной глубокой вены; 4. при врожденных венозных дисплазиях глубоких вен (синдром Клиппеля – Треноне).
Язвы, вызванные врожденными и приобретенными артериовенозными сдвигами	1. при посттравматических артериовенозных свищах и аневризмах 2. при врожденных артериовенозных свищах и аневризмах (синдром Паркса Вебера).
Ишемические язвы	1) атеросклеротические; 2) при облитерирующем эндартериите; 3) при диабетических ангиопатиях; 4) гипертензионно-ишемические язвы (синдром Мартореля).
Посттравматические язвы	после термических и химических ожогов, отморожений, скальпированных ран, пролежней, лучевых повреждений, ампутации стопы, остеомиелита и др., которые приводят к обширному глубокому дефекту кожи и прилежащих тканей.
Нейротрофические язвы	после травм и различных заболеваний головного мозга, периферических нервов.
Язвы, возникающие на почве общих заболеваний	коллагенозы, болезни обмена веществ, хронические интоксикации, болезни крови и кроветворных органов, сифилис, туберкулез и другие заболевания внутренних органов.
Язвы, обусловленные местными инфекционными, микотическими и паразитарными заболеваниями	Эпифасциальные флегмоны, некротическая форма рожи, микробные язвы, фунгиозные, паразитарные).
По фазам течения: Первая фаза Вторая фаза Третья фаза	Предъязвенного состояния. Дистрофических изменений, некроза, воспаления кожи и прилежащих тканей. Очищения язвы и регенерации.

Трофические язвы венозного происхождения при хронической венозной недостаточности классифицируются по их площади следующим образом:

- Малые: площадью менее 5 см².
- Средние: площадью от 6 до 20 см².
- Большие: площадью от 20 до 50 см².
- Обширные или гигантские: площадью более 50 см².

4. Клиническое течение язвенных поражений кожи

Трофические язвы венозной природы развиваются из-за недостаточности клапанов в поверхностных или перфорантных венах при глубоких венозных тромбозах [Гостищев, В. К., А. М. Хохлов 1991]. При этом патогенетические механизмы развития трофических расстройств при ХВН являются общими и не зависят от причин ее возникновения. Повышенное венозное давление провоцирует развитие деформации капилляров и повышение их проницаемости, что по итогу приводит к выпотеванию макромолекул и формированию фибриновых манжет в прилегающих тканях. Данные изменения приводят к нарушению доставки кислорода и питательных веществ, что по итогу заканчивается ишемией и омертвением тканей. Повышенное внутрисосудистое давление также уменьшает коллоидно-осмотическое давление, что приводит к выходу жидкости из сосудов в ткани и вызывает интерстициальный отек, который ограничивает артериальный кровоток. Эти патологические процессы взаимосвязаны и приводят к развитию язв трофической природы при наличии ХВН.

Трофические язвы обычно возникают в результате незначительных повреждений, таких как ушибы и царапины, а также контактного дерматита, которые служат иницирующим фактором.

Перед образованием ТЯ наблюдаются следующие симптомы: отечность, гиперпигментация кожи, мышечные судороги, зуд, ощущение жара, жжения.

В основном они локализуются на медиальной поверхности нижней трети стопы.

Артериальная (ишемическая) ТЯ встречается в 8-12% случаев [Савельев В.С., Гологорский В.А., Кириенко А.И. и др. 2001]. Артериальные язвы обычно возникают в результате артериальной недостаточности у старших мужчин. Симптомы артериальной недостаточности включают эпизодическую хромоту (боль при ходьбе), онемение, снижение температуры конечностей, миоатрофию, ухудшение состояние волосяного покрова, поражение кожи и ногтей грибковой природы. В некоторых случаях отмечается развитие атеросклероза в других органах и системах, развитие ИБС и гипоксии головного мозга. Причины развития артериальной недостаточности могут включать в себя травмы различной этиологии, ношение тесной и неудобной обуви, а также переохлаждение. Язвы артериальной природы развиваются на фоне артериальной недостаточности, и чаще всего формируются в специфических регионах, таких как пятка, последняя фаланга большого пальца стопы, тыльная поверхность стопы, подошва, а также переднебоковая поверхность стопы. Данные язвы имеют специфические проявления, такие как небольшой полукруглый вид с наличием рыхлых грануляций с плотными неровными краями. Чаще всего они превышают уровень окружающей бледно-желтой кожи, а также могут содержать участки с омертвевшей тканью, поражающей сухожилия и кости. Одним из ведущих проявлений недостаточности артериальных сосудов является наличие болевых ощущений, которые развиваются в период ходьбы и усиливаются при поднятии пораженной конечности, что является отличительной чертой от венозной недостаточности [Бакулева А.Н. , 2010]. Ишемические язвы обычно небольших размеров, полукруглой формы, с вялыми грануляциями, плотными неровными краями, возвышающимися на фоне бледно-желтой кожи, часто с участками краевого некроза, который может распространяться вглубь с обнажением сухожилий и кости. В клинической картине заболевания превалирует болевой синдром, который в

отличие от ХВН провоцируется ходьбой и усиливается при придании пораженной конечности возвышенного положения [Казаков Ю. И., Лукин И. Б., Казаков А. Ю. 2015].

В целях различия язв трофической природы, причиной которых является венозная дисфункция от язв, причиной которых послужило наличие артериальной недостаточности, может быть крайне информативна регистрация пульсации на задней и передней большеберцовых артерий. Следует учитывать анатомические особенности при отсутствии прощупывания пульсации данной артерии в обычном месте, в силу повышенного разделения передней большеберцовой артерии. Для определения хронической артериальной недостаточности требуется осуществление ультразвуковой доплерографии, благодаря которой мы сможем выявлять наличие сужений либо полное закрытие главных артерий. Также важно измерить лодыжечный индекс, значение которого ниже 0,8 указывает на клиническое снижение артериального кровотока. Эти методы помогают в диагностике и разграничении между артериальной и венозной недостаточностью при трофических язвах.

Нейротрофические язвы развиваются в регионах, утративших нервную иннервацию, у лиц с патологиями ЦНС и ПНС. Клиника начинает проявляться при наличии различных состояний таких как, невропатический синдром диабетической стопы, поражения ЦНС, ПНС, а также прочих патологиях, которые приводят к нейропатиям периферических отделов. Примерами данных патологий могут быть: миелодисплазия, миеломенингеальная саркоидоз, церингомиелия, пароксизмальная гемоглобинурия, рассеянный склероз, боковой амиотрофический склероз, спинная сухотка (третичный сифилис) и прочие. Язвы нейротрофической природы протекают с нарушением чувствительности, они часто обладают неглубокими ямками и неровными краями, их форма и размеры могут варьироваться. [Оболенский В. Н. 2009]

Язвы нейротрофического типа чаще всего развиваются в опорных локациях конечностей, таких как подошва, латеральная часть стопы, пяточная часть, латеральная поверхность первого и пятого плюсневых фаланг суставов в регионе голеностопного сустава. Даже при малых размерах данные язвы отличаются значительной глубиной поражения. Форма язв нейропатической природы чаще всего круглой формы, но они могут также иметь кратерообразные формы, на дне которых могут локализоваться мышцы, сухожилия и кости. Язвы чаще всего прикрыты плотным фибриновым слоем и имеют слабую грануляцию. Язвы по периметру имеют плотный кожный валик с сильным гиперкератозом. Обычно экссудация из нейротрофических язв незначительна, с небольшим количеством секрета, который может иметь серозно-гнойный характер и неприятный запах. Из-за постоянного давления, такие раны подвержены быстрой инфицированности. Восстановление язвы протекает без формирования плотной соединительной ткани, так как отмечается нарушение иннервации в данном регионе. В редких случаях отмечается развитие цианоза и отеков, развившихся на фоне сосудистого ответа, что может говорить о наличии у больного ХВН.

При осуществлении дифференциальной диагностики следует сделать акцент на то, что регион язв нейротрофической природы имеет выраженное уменьшение либо отсутствие чувствительности. Заключительный диагноз выставляется основываясь на анамнезе и итогах неврологического осмотра, в некоторых случаях отмечается потребность в проведении ЭМГ. Стоит отметить, что язвы нейротрофической природы выделяются ограниченными возможностями к регенерации. Один из наиболее главных принципов лечения заключается в исключении нагрузки в область язвы. В целях снижения нагрузки применяют методы полного, либо частичного опускания ноги во время ходьбы посредством костылей, применение стелек и обуви ортопедического типа, а также использование современных гипсовых сапог с отверстиями для упрощения ухода. Однако более 70% случаев нейротрофических язв не реагируют на консервативное лечение с

достаточным улучшением, и у них существует риск злокачественного течения в 10% случаев. [Токмакова А. Ю., Галстян Г. Р., 2001].

Застойные язвы - Образуются в результате декомпенсации сердечно-сосудистой деятельности, чаще – в пожилом и старческом возрасте. Обычно развиваются на обеих конечностях, бывают множественными, обширными, имеют бледные, дряблые грануляции, обильно экссудируют, иногда напоминают студнеобразную сероватую слизь. Кожа в окружности такой язвы отечна, от надавливания на нее пальцем образуется след в виде ямки, который медленно исчезает. По мере улучшения сердечно-сосудистой деятельности и исчезновения отека язва сразу уменьшается в размерах, края ее выравниваются с дном, появляется краевая эпителизация [Андреев Д. Ю., Ястребов П. А., Макарова Л.Н. 2015].

Диабетические язвы являются наиболее часто встречающимся проявлением СДС. Причинами развития данных язв имеет ряд факторов, в число которых входит ишемия, бактериемия, поражение суставов, наличие токсических веществ в крови, дисфункции иммунной системы, нарушение системы свертывания крови, а также нарушение гемодинамики в мелких сосудах. Отсутствие болевой чувствительности в регионе язвы развивается на фоне дисфункции иннервации, что является наиболее частой причиной позднего обращения в медицинские учреждения. В таких случаях наиболее частым отягощением является развитие инфекции и влажной гангрены, что по итогу приводит к ампутации конечности для сохранения жизни пациента [Биниенко М.А., Коцлова А.А. и др. 2015; Корейба К. А., Минабутдинов, А.Р., 2015].

Комбинированные язвы трофического характера развиваются по итогам сочетания нескольких причин и встречается в 15% всех случаев язвенных патологий нижних конечностей. Данный вид язв чаще всего развивается на фоне комбинирования артериальной и венозной недостаточности, артериальной и диабетической невропатии, а также патологии вен и сильной дисфункции гемодинамики. Важной целью лечения

смешанных трофических язв является устранение воспаления, снижение выделений, переход язвы во вторую стадию заживления и облегчение болевых симптомов. Однако диагностика и лечение таких язв, вызванных артерио-венозной природой, могут приводить к ряду затруднений. В таких случаях терапия должна иметь вектор на устранение всех патологических связей, которые стали причиной развития ТЯ [Токмакова А. Ю., Страхова Г. Ю., 2005; Seidman С.Е., Raffeto J.D. 2003].

Гипертензионно-ишемическая ТЯ - впервые описана испанским кардиологом Мартореллом. Синдром Марторелла в «чистом» виде, как его описывал автор, встречается редко – не более 2 % всех язвенно-некротических поражений нижних конечностей [Оболенский В. Н. 2001]. Чаще возникает у женской части населения старшей возрастной группы (после 40 лет). Длительная гипертензия приводит к гиалинозу мелких артериальных стволов в коже нижних конечностей, вследствие чего ослабевает кровоток на данном участке кожи. При нарушениях микроциркуляции крови отмечают повышенную проницаемость сосудистой мембраны, формирование локальных микротромбозов, приводящих к образованию некроза мягких тканей.

Гипертрофическая язва Марторелла характеризуется несколькими специфическими проявлениями. На начальных этапах отмечается развитие пурпурных папул либо красно-синих регионов со слабой болезненностью. В дальнейшем данные элементы развиваются и трансформируются в буллы. По мере прогрессирования язвы первичные кожные проявления высыхают, тем самым формируя некротический струп, который затрагивает верхние слои кожи и подкожную клетчатку. Воспаление вокруг язвы обычно не является значительным. Причиной возникновения язвы Марторелла могут быть раздражения, травматизация и прочие факторы, на которые пациенты не обращают должного внимания. Язва Марторелла чаще всего обнаруживается на наружной либо задней поверхности голени и часто развивается симметрично на обеих ногах. Для данного вида язв специфичны выраженные

болевые проявления как в состоянии покоя, так и при проведении пальпации. Гипертонические язвы чаще не имеют большой глубины поражения, грануляционные процессы не сильные, выделения незначительные. Развиваются медленно, стоит отметить, что без правильного лечения размеры язвы будут прогрессировать с присоединением бактериальной инфекции. Гипертоническая трофическая язва Марторелла имеет хронический характер первой фазы раневого процесса и чаще всего сопротивляется всевозможным методам и средствам локального и общего лечения. В отдельных случаях описаны злокачественные новообразования, связанные с данным типом язв [Кияшко В. А. 2003].

Сопутствующие патологии, такие как варикозное расширение вен, атеросклероз облитерирующего типа, СД и избыточная масса тела, часто встречаются у пациентов с гипертонической трофической язвой Марторелла. Эти условия усложняют диагностику и лечение. Однако при этом типе язвы не наблюдаются значительные нарушения гемодинамики в магистральных артериальных сосудах, которые могут быть определены клинически или с помощью ультразвуковой доплерографии и дуплексного ангиосканирования для обнаружения патологического вено-венозного рефлюкса. Для диагностики язвы Марторелла гипертонической формы нужно брать в расчет следующие факторы:

- наличие тяжелых форм ГБ, которая протекает с наличием изменений в ССС и прочих органах;
- отсутствие соответствия между болевыми проявлениями и регистрируемых патофизиологических изменениях сосудов при дуплексном исследовании.

В ходе осуществления дуплексного исследования есть вероятность регистрации шумов артерио-венозной природы, что подтверждает смешенную природу язвы. В некоторых случаях для клинического подтверждения установленного диагноза может понадобиться гистологическое исследование,

в ходе которой отмечается наличие внутриартериальной пролиферации и гиалиноз субэндотелиального типа

Пиогенные трофические язвы чаще всего развиваются у людей из группы социально неблагополучных ячеек общества. Наиболее часто данной патологии подвержены лица с наличием кожных дефектов гнойной природы, по типу пиодермии, ран с инфицированием, карбункулов, абсцессов, флегмон. Данному виду язв специфично длительное течение. Пиогенные язвы трофической природы характеризуются развитием нескольких гнойных очагов поверхностной локализации, которые имеют округлую форму и прикрыты гнойным налетом, стоит отметить, что вокруг данных образований отмечается выраженный воспалительный процесс. Причиной развития данного вида язв чаще всего являются Гр⁺ кокки такие как: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, а также иногда Гр⁻ микроорганизмы, такие как *Pseudomonas aeruginosa*. [Винник Ю.С. и др. 2006; Дибиров М. Д. 2014]

Трофические язвы, связанные с злокачественными новообразованиями, являются редкими и составляют около 1-1.5% всех случаев язв трофической природы. Причинами данных язв могут быть кожные новообразования, такие как меланома, базалиома, а также злокачественные новообразования мягких тканей и костей по типу аденокарциномы молочной железы, фибросаркомы, рабдомиосаркомы, остеосаркомы и другие. В случае трофической язвы, связанной с онкологическим процессом, рана имеет неровные и поврежденные края. Её дно является глубоким и кратерообразным, инфильтрированным, иногда с участками избыточной ткани, приподнятыми над раной. Возможно наличие очагов гниения, некроза и обильного отделяемого. [Гончарова Ю. А. 2015].

ТЯ на фоне системных заболеваний соединительной ткани - на фоне болезней крови, обмена веществ, васкулитов, коллагенозов обычно не имеют специфических признаков. Для распознавания их природы большое значение имеет диагностика основного заболевания [Гончарова Ю. А. 2015].

Лучевые язвы - сначала на коже появляется очаговая, крапчатая или сплошная пигментация, мелкие или крупные, ярко-красные телеангиэктазии, расположенные изолированно или группами. Кожные проявления сопровождаются выпадением волос. Острые лучевые кожные повреждения имеют длительное течение и плохо поддаются лечению. Лучевые язвы, независимо от их локализации, имеют большое внешнее сходство: округлую или овальную форму, плотные, неровные, обрывистые края, некротическое дно. Кожа вокруг язв изменена во всех случаях. Язвы проникают глубоко в подкожную клетчатку, в мышцы, а нередко поражают и кость [Галстян И. А., Надежина Н. М., и др.2015].

Рецидивы трофических язв нижних конечностей могут возникать у определенного процента пациентов после проведения операции. Исходя из различных источников данных это число колеблется от 4,8% до 31,6%. После консервативной терапии рецидивы встречаются чаще, и их частота может варьироваться от 15% до 100%. Рецидивы язв значительно влияют на качество жизни пациентов и часто становятся причиной инвалидности [Савельев В.С., Кириенко А.И., 2000]. Широкое распространение, длительное течение, частые рецидивы, временная потеря или снижение трудоспособности, инвалидизация, значительное ухудшение качества жизни больных заставляют рассматривать лечение трофических язв как важную проблему и искать новые высокоэффективные и при этом широкодоступные способы лечения. [Yavuz S., Demirtas S., Guclu O., 2012].

5. Клинико - морфологические изменения у больных с язвенными поражениями кожи

В развитии трофических язв хронически влияющие факторы и длительность процесса проявляются в разных морфологических формах. Специфическое течение трофических язв, персистирующих на фоне сахарного диабета и метаболического синдрома, следующее:

В частности, в этих участках наблюдается инфильтрация макрофагов в эрозивно-некротически эрозированные слои эпидермиса и дермы и резкое развитие фиброзных структур. Инфильтрация лимфоцитов и нейтрофилов меньше, чем макрофагов, и в большинстве этих участков выявляются интерстициальные вещества, деструктивно-дифрагментативно измененные фиброзные структуры и отдельные мышечные компоненты. В плане клинической морфологии по краям раны определяются кратерообразные узелки неправильной формы, распластаные, келоидные структуры и очаговые изменения с гиперпигментацией. Этот процесс указывает на внезапное или хроническое нарушение кровообращения. Вокруг раны выявляют очаги коагуляционного некроза и крупные чешуйчатые поражения кожи.

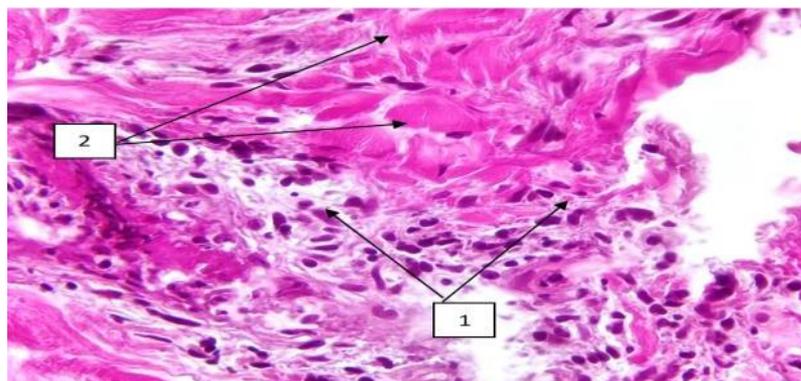


Рис.5.1. Кожная ткань. Большая инфильтрация макрофагами. (1). Определяются очаги фибриноидного набухания и фибриноидного некроза. (2). Краска Г.Э. Размер 10x10.

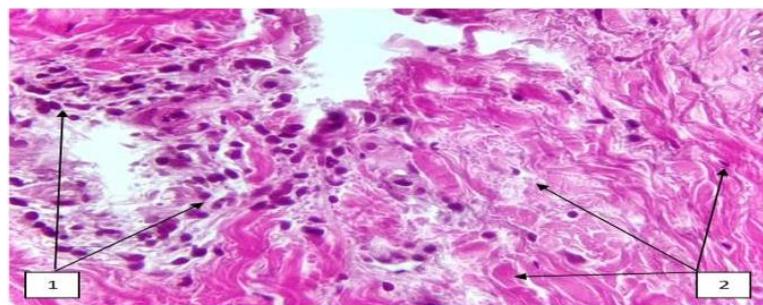


Рис.5.2. Кожная ткань.

Некроз в центре слева, окруженный макрофагальной инфильтрацией. (1). Коагуляционный некроз грубоволокнистых структур. (2). Определяются очаги эластофиброза. (3). Краска Г.Э. Размер 10x20.

Как морфологический субстрат большинства трофических язв, встречающихся при различных нозологиях, вокруг инфильтрата макрофагов располагаются разреженные и грубые фиброзные образования и структуры, напоминающие неспецифические гранулемы, которые развиваются в разной степени. Чаще всего, в зависимости от длительности процесса и реактивности организма, микроскопически вокруг трофических ран незавершенная форма репаративной регенерации протекает в виде заместительной фагоцитарно-активные типы макрофагов, развившиеся и скопившиеся вокруг изъязвленных очагов, определяются как интерстициальные опухоли. Плазматические клетки почти не обнаруживаются. В сосудах в зависимости от нозологического типа определяют наличие микроангиопатий: мукоидного набухания, фибриноидного набухания, гиалиноза, кальциноза и ангиосклероза стенки сосуда. Поэтому вокруг дермального слоя кожи макрофаги из гистиогенных клеток мигрируют из ткани в эти участки и принимают форму гранулемы.

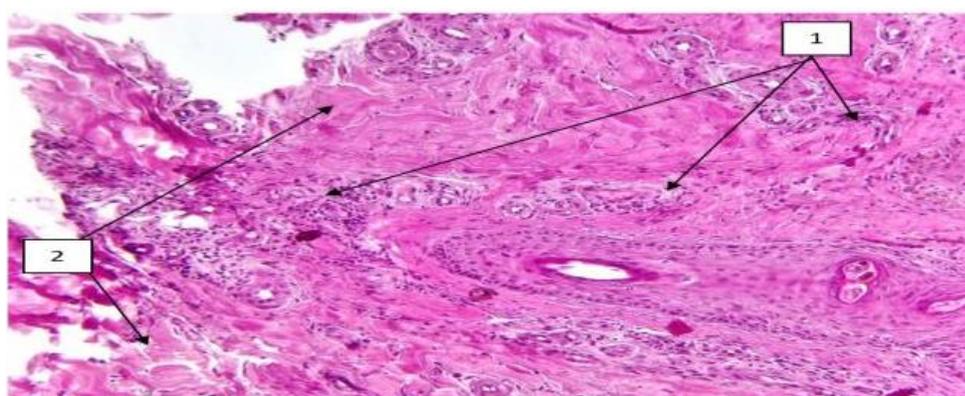


Рис.5.3. Кожная ткань.

Вокруг хронической раны выявляются грубые волокнистые структуры и инфильтрация макрофагов в интерстиции. (1). Коагуляционный некроз и промежуточные опухолевые очаги. (2). Итак, в микроскопической картине

клинико-морфологических изменений, возникающих при трофических язвах, развивающихся при различных нозологиях до лечения, основными составляющими являются: миграция резидентных макрофагов в места повреждения, инфильтрация в виде узелков, множество разреженных и грубые волокна в интерстициальной ткани характеризуется образованием структур, очень низким количеством лимфоцитов, плазматических клеток и нейтрофилов.

Это удлинняет процесс репаративной регенерации в поврежденных участках, и на завершающем этапе регенерации утраченные тканевые структуры замещаются грубоволокнистой рубцовой тканью. При этом сдавление кровеносных и лимфатических сосудов в этих областях продолжается с веностазом, лимфостазом, возникновением интерстициального отека в этой области.

Клинически, морфологически трофические язвы продолжают с расширением поверхности, развитием кратерообразных дефектов, наличием отёков на голенях или руках в области язвы, развитием очагов патологической гиперпигментации вокруг язвенных очагов.

5.1. Патоморфологические и иммуногистохимические особенности трофических язв.

Несмотря на обширные исследования, патогенез трофических язв остается недостаточно изученным. Особенно это касается роли клеточных и молекулярных механизмов, определяющих хроническое воспаление и репарацию тканей. Фибробласты, являясь ключевыми клетками грануляционной ткани, играют важную роль в заживлении язв, участвуя в ремоделировании внеклеточного матрикса и ангиогенезе. Однако их избыточная активность может способствовать формированию патологической ткани .

Роль CD4+ Т-лимфоцитов в патогенезе трофических язв также остается предметом научного интереса. Эти клетки, участвующие в иммунорегуляции, связаны с хроническим воспалением и стимулированием ангиогенеза, что делает их важным звеном в патогенетической цепочке .

Настоящее исследование фокусируется на комплексном анализе тканей трофических язв с применением гистологических и иммуногистохимических методов. Особое внимание уделяется изучению патоморфологии фибробластов, их морфометрических характеристик и роли CD4+ Т-лимфоцитов. Работа направлена на углубление понимания механизмов развития трофических язв и поиск потенциальных мишеней для улучшения диагностики и терапии.

Целью наших исследований явилось изучить патоморфологические и иммуногистохимические особенности тканей трофических язв с учетом CD4+ Т-лимфоцитов и морфометрических характеристик фибробластов.

В рамках гранта нами обследованы 17 пациентов с трофическими язвами в возрасте от 45 до 76 лет. Среди них лица женского пола составили – 10 и мужского – 7 пациентов. У всех больных проводилось стандартное клиническое обследование, включающее лабораторные анализы, морфологическое исследование биопсийного материала и иммуногистохимическое исследование (ИГХ). Гистологическое исследование включало окрашивание гематоксилин-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизону. Иммуногистохимия проводилась с использованием антител к CD4. Морфометрический анализ фибробластов включал оценку их плотности, размеров и активности. Для проведения морфологических исследований биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине (рН 7,3), проводили изопропиловую проводку, уплотняли в ксилол-парафиновой каше, заливали в парафиновый блок. На микротоме делали срезы толщиной 3-4 микрона, наносили их на предметные стекла с адгезивным покрытием и депарафинировали. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопические исследования проводились с

помощью светового микроскопа “Eclipse E200” фирмы “Nikon” (Япония) при увеличении в 180 и 400 раз.

Гистологический анализ выявил выраженные нарушения структуры тканей. Так как все биоптаты были взяты с края язвы, эпидермис отсутствовал в зоне язвы, наблюдалась гиперплазия в периферических участках. (Рис 2.3.1.) В дерме отмечалась значительная дезорганизация коллагеновых волокон, признаки хронического воспаления: лимфогистиоцитарные инфильтраты с содержанием нейтрофилов, фибробластов, расширение и повреждение сосудов с аналогичными периваскулярными инфильтратами. В грануляционной ткани преобладали активные фибробласты и увеличенное количество макрофагов.

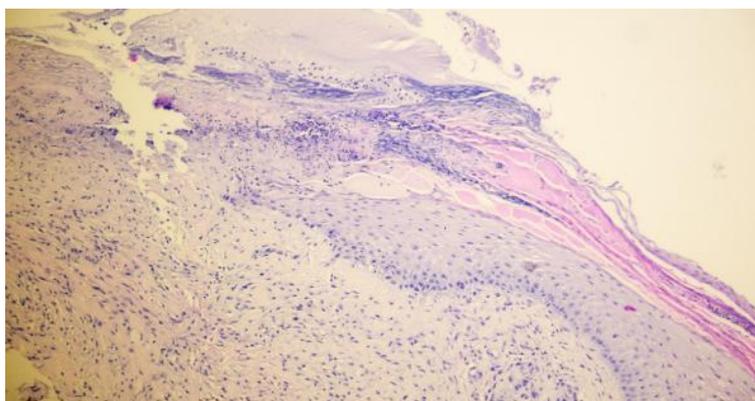


Рис 5.1.1. Трофическая язва. Край зоны язвы – эпидермис отсутствует, дерма покрыта коркой. (Окраска ГЭ)

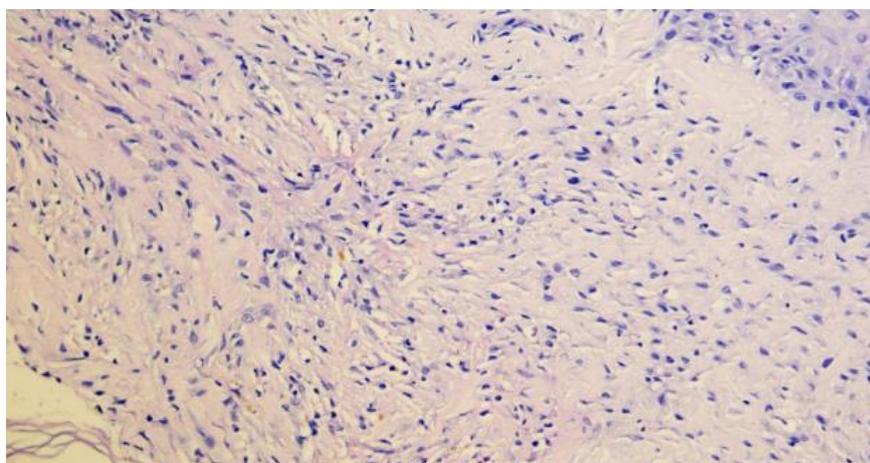


Рис 5.1.2. В дерме наблюдается инфильтрация с преобладанием фибробластов и увеличением их числа. (Окраска ГЭ)

Окраска по Ван-Гизону выявила выраженные фиброзные изменения в соединительной ткани, характерные для трофических язв. В глубоких слоях дермы наблюдалось скопление плотных коллагеновых волокон с нарушением их организации, что свидетельствует о ремоделировании внеклеточного матрикса. В грануляционной ткани преобладал рыхлый коллаген, указывающий на активное воспаление. В периваскулярных зонах отмечалось увеличение плотности коллагеновых волокон, связанное с васкуляризацией и попытками репарации ткани. Эти изменения подчеркивают ключевую роль фиброза и нарушения регенеративных процессов в патогенезе трофических язв.

Морфометрическое наблюдение фибробластов. Анализ фибробластов в грануляционной ткани продемонстрировал увеличение их размеров. Средняя длина клеток составила $19,2 \pm 2,5$ мкм, ширина — $6,8 \pm 1,1$ мкм. Плотность фибробластов в зоне грануляционной ткани составила 3200 ± 450 клеток/мм². Иммуногистохимические аспекты. Все биоптаты исследовались на наличие CD4⁺ Т-лимфоцитов. CD4⁺ Т-клетки выявлялись в периферических участках язвы и вокруг сосудов. Их плотность была выше в зонах с активным воспалением. (Рис 5.1.3.)

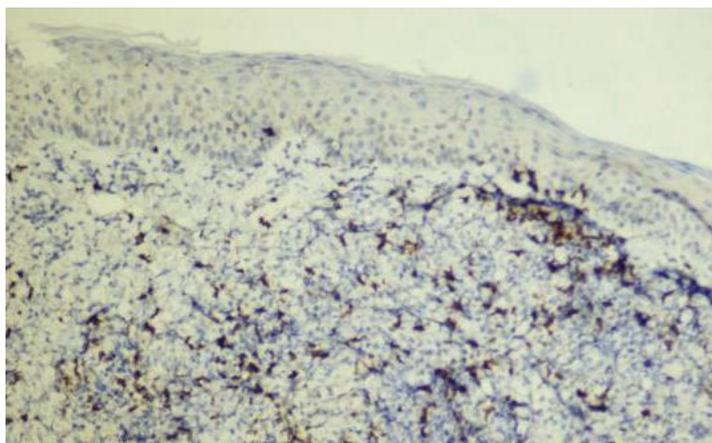


Рис 5.1.3. Трофическая язва, CD4⁺ Т-лимфоциты в дерме.

Заключение. Трофические язвы представляют собой сложную патологию, требующую мультидисциплинарного подхода. Исследование

гистологических и иммуногистохимических характеристик, включая роль CD4+ Т-лимфоцитов, позволило углубить понимание патогенеза язв.

Хроническое воспаление с участием CD4+ клеток является ключевым механизмом, поддерживающим развитие трофической язвы.

Морфометрический анализ фибробластов показал, что их активность может быть целевой мишенью для терапии. Таргетные препараты, направленные на модуляцию активности CD4+ клеток и ангиогенеза, могут существенно улучшить исходы лечения.

Предложенные морфометрические параметры фибробластов и результаты иммуногистохимического анализа могут послужить основой для разработки новых методов лечения.

6. Современные представления лечения трофических язв кожи.

Остро стоит проблема лечения больных с трофическими язвами, которое выходит за рамки чисто медицинской и приобретает социально-экономическую, государственную значимость.

Следует отметить, что для выбора адекватной терапии больным с трофической язвой рекомендуется комплексное обследование для определения степени тяжести патологического процесса, наличия аутоиммунного процесса, состояние биохимического статуса организма, а также микробиологические и микологические исследования для выявления персистирующих форм бактериальной инфекции. В связи с этим предлагаем ряд клинико-лабораторных исследований, что будет способствовать выбору правильной тактики лечения и мониторинга динамики рассасывания процесса. Необходимо больные должны пройти консультации смежных специалистов (терапевт, эндокринолог, хирург, инфекциониста и др.)

Лабораторные исследования:

1. общий анализ крови;
2. Биохимические исследования крови;

3. ИФА-исследования на С-реактивный белок;
4. ИФА-исследования на аутоиммунный процесс (ДНК DS et SS);
5. ИФА-исследования на определения уровня прокальцитонин
6. Гистологические исследования биоптата кожи.
7. Микробиологические исследования очагов поражения (видовая идентификация, колонизация, антибактериальная чувствительность)
8. Микологические исследования (микроскопия и культуральное исследования)
9. ПЦР исследования для выявления генотипов условно-патогенных микроорганизмов (MRSA, MSSA, MRCoNS стафилококков)

Современная программа лечения ТЯ венозной этиологии базируется на принципе этапности и рационального сочетания общего компрессионного, хирургического и местного медикаментозного лечения. Концепция хирургического лечения инфицированных язв на современном этапе несколько изменилась, что связано с внедрением в хирургическую практику менее агрессивных и малоинвазивных методов.

Ведущий метод лечения ТЯ на протяжении многих десятилетий – радикальная хирургическая обработка язвы – на сегодняшний день утратил свою актуальность и акцент при выполнении saniрующих хирургических вмешательств сместился в сторону более щадящей частичной хирургической обработки раны с удалением лишь патологически измененных тканей. Данный метод представляется не только как малотравматичный, но и позволяет сохранить значительную часть тканей для последующего пластического закрытия раны. Обоснованный отказ от радикальных saniрующих операций стал приемлемым благодаря возможности использования полифункциональных перевязочных средств нового поколения, антисептических и мазевых препаратов. Это особо важно при хирургических вмешательствах в функционально «невыгодных» зонах, в которых ограничены возможности пластики местными тканями (область голеностопного сустава)

[Чур Н. Н., Гришин И. Н., Чур С. Н. 2005]. Важно заметить, что этапный хирургический метод в лечении ТЯ не является основным, лечение должно быть комплексным и включать общую и местную фармакотерапию, воздействие физических методов и применение компрессионного трикотажа. Однако ключевым моментом успешного медикаментозного лечения данной патологии является устранение венозной гипертензии, которая является основной причиной развития язвенных дефектов [Raffetto J. D. et al. 2012]. Длительное применение лекарственных препаратов для местного лечения ТЯ в 75-80% случаев наблюдений приводит к развитию экзематозного дерматита вокруг ТЯ, лимфореи, что затрудняет заживление язв.

При назначении комбинации методов местного лечения, считают отдельные авторы, необходимо учитывать стадии течения раневого процесса: воспаления, регенерации, эпителизации и ремоделирования рубца. К сожалению, при ТЯ невозможно определить фазы раневого процесса, что создает определенные трудности в выборе средств для местного лечения [Круглова Л. С., Панин А. Н., и др.2014].

Обязательным компонентом лечения ТЯ при лимфовенозной недостаточности является радикальная хирургическая обработка гнойного очага и последующее местное лечение. Доказано, что за последние годы микрофлора гнойных ран и ее биологические свойства претерпели существенные изменения, проявляющиеся быстрой потерей чувствительности к современным антибактериальным препаратам.

Действие препарата оказывается кратковременным, а необходимая концентрация в ране для подавления микрофлоры не создается. Одним из условий эффективной санации гнойной раны и ТЯ является создание оптимальной концентрации антисептиков в ране и ТЯ на длительное время. Поэтому отдельные авторы предлагают использовать иммобилизированные (полимерные) антисептики, которые способны пролонгированно высвобождать из антисептика активные вещества и оказывать противомикробное действие продолжительное время, обладают выраженным

противовоспалительным свойством, биологически инертны, ускоряют сроки очищения ТЯ и прекращения лимфорей. Применение иммобилизованного антисептика обладает рядом преимуществ: легко наносится, долгое время остается на поверхности язвы за счет хорошей адгезии, обладает крайне низкой летучестью [Дубровщик О.И., Довнар И.С., и др. 2019].

Существует большая группа пациентов с ТЯ, у которых местное лечение является единственно возможным. Это больные с рецидивирующими язвами, у которых хирургические методы коррекции уже неэффективны или не показаны, пожилые больные с тяжелой сопутствующей патологией, являющейся противопоказанием для оперативного вмешательства. Для местного лечения ТЯ, их санации и заживления предложено большое количество малоинвазивных механических и физических вмешательств, химических и биологических препаратов и их комбинаций. В частности, распространены методы, нацеленные на каждую стадию раневого процесса, они включают очищение язвы с помощью энзимов, аппликации раневых покрытий (альгипор, гишиспон), аппаратную терапию озоном, ультразвуком, вакуумом. Кожная пластика эффективна для закрытия язв больших размеров, однако также известны проблемы, связанные с этим видом лечения .

Консервативное лечение в зависимости от стадии язвенного процесса:

Фаза экссудации характеризуется обильным раневым отделяемым, выраженной перифокальной воспалительной реакцией мягких тканей и частой бактериальной обсемененностью язвы. В связи с этим, главной задачей лечения является санация ТЯ от патогенной микрофлоры и некротических тканей, а также подавление системного и местного воспаления. Всем пациентам на 10-14 дней рекомендуют полупостельный режим. Целесообразно системно применение дезагрегантов и флеботонических препаратов. У артериальных пациентов нередко двухкомпонентные дезагрегантные схемы, пролонгировано принимаются пероральные антикоагулянты. Распространены подобные методики и при диабетических язвах, наряду с неукоснительным контролем гипергликемии. Гипертензивные

язвы диктуют необходимость коррекции артериальной гипертензии. Возможно назначение антибиотиков широкого спектра действия фторхинолонового или цефалоспоринового рядов. Это особенно важно при пиогенных язвах. Антибиотики целесообразно назначать парентерально, хотя в ряде случаев допускается и пероральный их прием. Учитывая частые ассоциации патогенных микроорганизмов с бактериальной и грибковой флорой, антибактериальную терапию целесообразно усилить, включив в нее противогрибковые препараты и производные антипротозойные средства. Безусловно, перед назначением антибактериального лечения производится микробиологический анализ с целью выделения спектра патогенных микроорганизмов и определения их антибиотикочувствительности. Активное воспаление периульцерозных тканей и выраженный болевой синдром определяют целесообразность системного применения неспецифических противовоспалительных средств. Ключевую роль имеет местное лечение ТЯ. Зачастую начинать его следует с дебридмента – освобождения язвы от некротических тканей и массивных наложений фибрина. По типу воздействия различают механический, химический и биологический дебридмент. Важен ежедневный двух-трехкратный туалет язвенной поверхности. Для этого следует использовать индивидуальную мягкую губку и антисептический раствор. После механической обработки ТЯ целесообразно наложить повязку с водорастворимой мазью, обладающей осмотической активностью и компрессионную повязку, в случае если у пациента нет артериальной недостаточности. В данную фазу оправданно использование сорбирующих биодеградируемых покрытий с антибактериальной компонентой на основе олигодинамического действия ионов металлов, а также гелевых форм антисептиков пролонгированного действия. Для предотвращения мацерации периульцерозных тканей по периферии ТЯ целесообразно нанести цинкоксидную мазь или обработать кожу слабым раствором нитрата серебра. В фазу экссудации эластичский бандаж желательно менять ежедневно [Cullum N., Nelson E.A., Fletcher A.W. et al. 2001].

Переход язвы в *фазу репарации* характеризуется очищением раневой поверхности, появлением грануляций, стиханием перифокального воспаления и уменьшением экссудации. Основной задачей лечения становится стимуляция роста и созревания соединительной ткани. С целью ускорения ее созревания желательна ведение раны во влажной среде, с применением гидроколлоидных повязок на гелевой основе целесообразно применять гиалуронат цинка. Гиалуроновая кислота является основным структурным компонентом соединительной ткани, ионизированный цинк - активное антисептическое средство. Обязательным компонентом остается адекватная эластическая компрессия.

В *фазу эпителизации*, характеризующуюся началом эпителизации трофической язвы и 24 созреванием соединительнотканного рубца необходимо надежно защитить последний от возможного внешнего механического повреждения. Это достигается постоянным ношением эластического биндажа, который накладывается на срок до 5-7 дней. Среди средств местного воздействия оптимальным является применение названных выше раневых покрытий, которые существенно ускоряют процесс эпителизации. Следует особо подчеркнуть необходимость продолжения приема поливалентных флеботоников. Наибольший эффект у больных с ТЯ отмечается при длительности курса не менее 3-х месяцев.

Традиционные способы лечения трофических язв венозной этиологии подразумевают сочетание фармакотерапии и местного воздействия, но данные методы, как правило, являются мало результативными. Обычный уход за раной может иногда приводить к неоптимальному заживлению ран и значительной заболеваемости или даже гибели пациентов. Использование заменителей кожи обеспечивает терапию, которая характеризуется высокой терапевтической и экономической эффективностью по сравнению с традиционными методами лечения [Nicholas M.N., Yeung J., Cutan J. 2017]. В тоже время необратимое повреждение кожи, подкожной клетчатки и фасции при длительном наличии язв делает неэффективной стандартную

аутотрансплантацию, так как кожные трансплантаты часто осложняются частичным или полным отторжением кожных лоскутов. В настоящее время лечение данной патологии требует трансплантации уже существующих эпителиальных компонентов или терапии с использованием культивируемых клеток [Kurita M., Araoka T., Hishida T. et al. 2018].

6.1. Роль фибробластов в регенерации, межклеточные взаимодействия.

Фибробласты представляют собой разностороннюю динамическую популяцию клеток мезенхимного происхождения, выполняющую как регенеративные функции, так и принимающую участие в реализации патологического процесса. Несмотря на то, что фибробласты часто связаны с развитием заболеваний, особенно через образование фиброзной ткани, они обладают большим потенциалом для применения в тканевой инженерии и регенеративной медицине. Они отвечают за синтез и депонирование компонентов внеклеточного матрикса, позволяя другим клеткам оседать и мигрировать вдоль трехмерной подложки и тем самым генерировать специфическую для данного органа архитектуру. Кроме того, они производят биоактивные молекулы, которые участвуют в нескольких физиологических процессах, включая ангиогенез и восстановление тканей. Поэтому они привлекают все больший интерес и в настоящее время интенсивно исследуются в качестве источника клеток для разработки биоинженерных тканевых конструкций [Costa-Almeida R.1, Soares R., 2018].

Раны кожи человека заживают в основном путем репаративного, а не регенеративного заживления, причем при заживлении формируется рубцовая ткань. Во время развития плода ответ на повреждение кожи проходит два этапа: первоначально возникает регенерация без образования рубца, но на более поздних стадиях эмбриогенеза в ответ на повреждение развивается рубцевание. Jiang D. et al. (2018) показали, что развитие дермы и ее регенерация на ранних этапах эмбриогенеза обусловлены «первоначальными»

фибробластами, число которых впоследствии уменьшается. С другой стороны, фибробласты «с историей» уже на ранней стадии обладают способностями к рубцеванию, а увеличение их количества способствует образованию рубцов. Таким образом, замена линии фибробластов в клинической практике создает потенциальные возможности для уменьшения рубцевания дермы.

Сходные данные приведены в исследовании Woodley D.T., который подчеркивает, что дермальные фибробласты происходят из двух линий, имеющих различные клеточные маркеры и разные функциональные способности. Заживление раны на коже человека в основном включает в себя дермальные фибробластные линии от ретикулярной дермы, поэтому стимулирование линии дермальных фибробластов из папиллярной дермы в раннем периоде дает возможность ране заживать без образования рубца [Woodley D.T. 2017].

В формировании гипертрофированного рубца также играет роль белок HMGB1, который является многофункциональным цитокином, участвующим в воспалительных реакциях. Он играет ключевую роль в восстановлении тканей и фиброзе. Zhao J. et al. обнаружили HMGB1 в ядрах эпидермальных клеток в нормальной коже и накопление его в цитоплазме при гипертрофических рубцах. Пониженное состояние гидратации увеличивало экспрессию HMGB1 в кератиноцитах, в дальнейшем активируя дермальные фибробласты, что способствовало формированию рубца.

Старение фибробластов, которые присутствуют в хронических язвах, являются причиной того, что рана становится хронической. В исследовании, проведенном Gualdi G. et al. (2018), микроскопические пласты кожи были введены в язвенный дефект. Такой хирургический метод известен как «вложенный трансплантат» и дает обнадеживающие результаты, ведущие к полному заживлению ран у всех пациентов. Оценка культур фибробластов, взятых из раны до и после лечения, и сравнение с фибробластами из здоровой кожи показали, что фибробласты, взятые из язвы после обработки вложенного трансплантата, приобретают морфофункциональные характеристики,

совпадающие с таковыми у фибробластов из здоровой кожи. Таким образом, такой хирургический подход может привести к заживлению хронических язв.

Abugaliyev K. et al. (2014) провели трансплантацию культивируемых эмбриональных фибробластов на подложку из ксеногенной ткани при комплексном лечении трофических язв для стимуляции регенеративных процессов. Предварительно была проведена децеллюляризация ксеногенной пленки, затем аллогенные фибробласты культивировали на поверхности коллаген-эластинового матрикса. Было проведено лечение 12 пациентов с гигантскими язвами, размеры которых составляли 150-600 см², длительность заболевания колебалась от 8 месяцев до 10 лет. В течение ряда лет все пациенты получали комплексную терапию, которая не дала положительных результатов. Во время операции, после удаления грануляционной ткани, пластические раны перфорировали с соотношением 1:2 аутокожи. Ксеногенную ткань с культивируемыми фибробластами наносили сверху. В этом случае ксеногенная пленка защищала кожу от высыхания, создавала оптимальный микроклимат и культивировала фибробласты, стимулируя регенерацию и улучшая приживление. Во всех случаях результаты приживления кожных трансплантатов достигли максимально возможных (100%) и оптимальных (90%). Полная эпителизация перфорации клеток наблюдалась у 5-ти пациентов на 5-ый день и у 3-х на 7-ой день после пластики кожи. Средний срок стационарного лечения составил 20,7 дня. Все пациенты были выписаны с зажившими ранами.

Kurita M. et al. (2018) разработали метод эпителизации *de novo* для лечения кожных язв с помощью перепрограммирования резидентных мезенхимальных клеток *in vivo* в клетки, способные образовывать стратифицированный эпителий. Введение 4-х транскрипционных факторов (DNP63A, GRHL2, TFAP2A и cMYC), экспрессируемых через аденоассоциированные вирусные векторы, позволило генерировать эпителиальные клетки и ткани, тем самым достигая эпителизации *de novo* с поверхностей кожных язв на мышинной модели. Генерированный эпителий,

имеющий барьерные функции, эквивалентные исходному эпидермису, сохранялся в течение более 6-ти месяцев. Результаты данного исследования являются концепцией будущего развития инновационных методов лечения кожных язв с помощью эпителизации *de novo*.

Цель исследования, проведенного Ueno K. et al. (2016), состояла в том, чтобы подтвердить терапевтический эффект использования смешанных листов, состоящих из моноклеарных клеток периферической крови и фибробластов, на длительно существующие кожные язвы. Трансплантация листов смешанных клеток привела к восстановлению естественной структуры подкожных тканей.

Барановским Ю.Г. и др. (2019) исследована эффективность применения дермальных фибробластов с целью улучшения процесса регенерации трофических язв. В исследовании участвовало 41 пациент хирургического отделения ГБУЗ РК «Симферопольской ЦРКБ», имеющих трофические язвы нижних конечностей различных размеров и форм 4-26 см². Пациенты 1-й группы дополнительно к комплексному лечению трофических язв получали местное лечение стимуляторами регенеративного процесса – дермальными фибробластами. По стандартным подходам лечение получали 21 пациент с трофическими язвами (2-я группа). Использование дермального эквивалента в комплексе лечения трофических язв явилось клинически эффективным. Примененный метод в 1-й группе способствовал ускорению процессов репарации, уменьшению сроков заживления трофических язв, статистически значимому уменьшению площади раневого дефекта по сравнению с больными 2-й группы.

Баранов Е.В. и др. (2017) показал, что локальная трансплантация дермальных фибробластов при комбинированном применении с мезенхимальными стволовыми клетками или в виде монотерапии, приводят у лабораторных животных с раневыми дефектами к ускорению смены фаз раневого процесса и способствуют сокращению сроков заживления экспериментальных «чистых» ран по сравнению с группой контроля.

Поиск новых эффективных ранозаживляющих средств всегда остается актуальным вопросом медицинской практики. С учетом высокой контаминированности антибиотикорезистентными штаммами, распространения коморбидности и, как следствие, полипрагмазии, в настоящее время все большее значение в лечении трофических язв получают физиотерапевтические методики. Среди ключевых технологий можно назвать фотодинамическое воздействие, озонотерапию и NO-терапию, основной точкой приложения которых является деконтаминация язвенного дефекта. От стандартного антибактериального лечения их отличает отсутствие медикаментозной нагрузки, тотальный спектр воздействия, невозможность появления резистентности, отсутствие аллергических реакций. Так же с целью улучшения раневого дренажа эффективно применяется вакуум- терапия. В дерматологии одним из наиболее распространенных методов физиотерапии является светолечение.

6.2. Аутологичная богатая тромбоцитами плазма

Перспективным в терапии длительно незаживающих ран кожи является применение аутологичной или гетерологичной плазмы, богатой тромбоцитами [Vuylsteke M. E., Thomis S., Guillaume G., 2017]. Тромбоциты, известные своей ролью в гемостазе, имеют еще одну очень важную физиологическую функцию, которая лишь недавно была открыта и изучена: они являются переносчиками протеинов, играющих роль в регенерации тканей. Тромбоциты представляют собой маленькие дискоидные клеточные элементы, различные по размеру и плотности, это фрагменты цитоплазмы мегакариоцитов – гигантских клеток в костном мозге. Они циркулируют по крови 8-10 дней. Тромбоциты содержат в себе факторы роста, отвечающие за регенерацию различных тканей. Они являются переносчиками этих факторов и высвобождают их в местах, где произошло повреждение [Чур Н. Н., Гришин И. Н., Чур С. Н. 2005]. Факторы роста,

заклученные в специальные секреторные гранулы тромбоцитов – альфа-гранулы, включают в себя: фактор роста тромбоцитов (PDGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), тромбоцитарный ангиогенный фактор роста (PDAF), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β). Высвобождение этих факторов инициируется активацией тромбоцитов, которые, в свою очередь, активизируются различными веществами-стимуляторами, такими как тромбин, хлорид кальция или коллаген. Факторы роста играют ключевую роль в заживлении ран и регенеративных процессах, таких как хемотаксис, пролиферация, дифференцировка и ангиогенез [Karkos C. D., Holbrook C., Makris S. A. et al. 2005]. В БоТП эти факторы присутствуют в увеличенном количестве. Кроме того, там также присутствуют и другие вещества (фибронектин, витронектин, сфингозин, 1-фосфат и др.), которые играют важную роль в заживлении ран [Cullum N., Nelson E.A., Fletcher A.W 2001]. Недавно была распознана морфологическая и молекулярная конфигурация БоТП – это сеть фибрина вокруг тромбоцитов, которая поддерживает регенеративный. Поскольку БоТП содержит факторы роста, она способна стимулировать ангиогенез и увеличивать дифференцировку фибробластов, ускоряя ранозаживление и уменьшая риск образования рубца [Flanagan M 2003]. Фактор роста тромбоцитов (PDGF) и эпидермальный фактор роста (EGF) – главные факторы, влияющие на миграцию фибробластов, пролиферацию и синтез коллагена. По данным литературы увеличенные концентрации этих факторов ускоряют заживление раны в 2-3 раза.

Аутологичная БоТП (PRP) или аутологичная плазма, богатая факторами роста (PRGF), – это увеличенная в несколько раз концентрация аутологичных тромбоцитов, взвешенных в небольшом количестве собственной плазмы, после центрифугирования. В соответствии с гематологическими критериями, БоТП это плазма, содержащая более 300-350,000 тыс/мкл и не содержащая лейкоцитов [Esmat S.M., Nadidi H.H., Negazy R.A. et al. 2018]. Несмотря на существующее мнение некоторых

авторов, что чем больше концентрация тромбоцитов в плазме, тем выше эффективность, оптимальная концентрация тромбоцитов, дающая максимальный клинический эффект, равна 1 млн. тромбоцитов в мкл, т. е. всего в 2-3 раза выше, чем в норме [Zhao J., Yu J., Xu Y. et al. 2018]. Итак, тромбоциты концентрируются в плазме над эритроцитами. Лейкоциты располагаются в виде тонкой прослойки над эритроцитами. Концентрация тромбоцитов в плазме превышает обычную в 3 раза. Непосредственно перед применением добавляют агонист тромбоцитов (бычий тромбин или 10% хлорид кальция), чтобы активизировать процесс свертывания, в результате которого образуется тромбоцитарный гель. На весь процесс изготовления уходит 12 мин – образуется концентрат тромбоцитов, в 3-5 раз превышающий концентрацию тромбоцитов в обычной плазме. Секреция факторов роста начинается сразу после активации. Чаще всего в качестве активатора используется кальций (на 1 мл БотП 50 мкл кальция глюконата) – он индуцирует экзоцитоз гранул. Кальций участвует в различных стадиях каскада свертывания крови. На последней стадии активированный комплекс Ха/Va трансформирует протромбин в тромбин [Reese R.J. 2010]. Тромбин является инициатором формирования сгустка, он ответствен за синтез сетки фибрина, содержащей участки с тромбоцитами. [Rapra L.M. 2011] Итак, когда тромбоциты активируются, каскад сигналов ведет к реорганизации скелета тромбоцитов, централизации секретируемых ими гранул и экзоцитозу маленьких молекул и протеинов из 3 типов гранул: плотные гранулы, а-гранулы и лизосомы. Плотные гранулы содержат маленькие молекулы как АДФ и серотонин, лизосомы содержат деградировавшие ферменты, а-гранулы – различные протеины. Когда для активации используется кальций, секреция ФР из а-гранул медленная. Чтобы оптимизировать процесс секреции, была рассчитана оптимальная концентрация кальция [Pietrzak WS. 2005]. Если концентрация кальция увеличена, то также как и при уменьшенной концентрации кальция, происходит уменьшение экзоцитоза. Возможно, это связано с активацией

протеаз, содержащихся в тромбоцитах. В случаях когда нужна немедленная активация (в течение 1-2 мин), используется эндогенный тромбин. Активация же с использованием кальция приводит к более медленной активации. Через час после активации секретируются около 90-95% ФР, поэтому плазма не должна быть активирована до того как она будет использована. Если же она активирована тромбином – должна быть использована немедленно, если кальцием – в течение 10-15 мин [McAleer J.P. 2006]. Саму плазму, находящуюся над прослойкой лейкоцитов и эритроцитов, можно разделить на 3 части в зависимости от количества тромбоцитов [Mehta S. 2008]. В I фракции, которая занимает половину плазмы, содержание тромбоцитов равно таковому в периферической крови. Во II фракции (примерно верхняя часть оставшейся плазмы) концентрация тромбоцитов больше, чем в плазме крови. В III фракции (нижняя часть оставшейся плазмы) концентрация тромбоцитов больше в 2-3 раза, чем в периферической крови. Это самая богатая тромбоцитами плазма. Как было сказано выше, помимо аутологичной богатой тромбоцитами плазмы существует и гетерологичная богатая тромбоцитами плазма, т.е. плазма, взятая не из крови самого пациента, как в случае с аутологичной БотП, а чужеродная [Mehta S. 2008].

Таким образом, использование аутологичной, богатой тромбоцитами плазмы, содержащей в своем составе тромбоциты с заключенными в них а-гранулами, которые при активации веществами-стимуляторами высвобождают путем экзоцитоза факторы роста, являющиеся цитокинами, которые ускоряют процесс регенерации в 2-3 раза по сравнению с нормой, не является чем-то новым для современной медицины. Отголоски этого метода берут свое начало в XIX веке, когда Август Бир впервые применил метод аутогемотерапии в лечении переломов. Тем не менее достижения современной науки позволили его переработать таким образом, что все нежелательные явления можно вести к нулю, а извлекаемый положительный эффект максимален.

Результаты использования в различных областях медицины:

Итак, аутологичная БоТП уже в течение 20 лет с успехом используется за рубежом для лечения хронических и острых ран кожи [Просяникова Н. В. 2014]. Анализ данных зарубежной литературы, посвященной применению аутологичной БоТП при хронических и острых ранах, позволяет сделать вывод, что при использовании БоТП достоверно быстрее наступает полная эпителизация раны, чем при использовании традиционных методов [Simonpieri A. 2009]. Также отмечены и более быстрая частичная эпителизация и сокращение площади раны при использовании БоТП. Кроме того, БоТП стимулирует заживление даже застарелых ран [Frykberg R.G. 2010; Randelli P. 2011]. Впервые аутологичная БоТП была применена в 1990-х годах для стимуляции процесса заживления в стоматологии и травматологии [Gassling V. 2010].

Зарубежными учеными проводились исследования, в которых трофические язвы, возникшие вследствие ХВН, СД, а также послеоперационные и острые раны лечили инъекциями БоТП в края раны, распылением на поверхность раневого дефекта, нанесением аппликационно в виде геля [Bains R. 2012]. Практически во всех случаях были получены хорошие результаты. Не было отмечено влияния БоТП на степень контаминации раны. Также были получены данные об экономической эффективности методики. По мнению многих авторов, БоТП является методом выбора при местном лечении ран поскольку кроме всего прочего применение данной методики является экономически эффективным [Yang K.C. 2012].

Также было изучено влияние БоТП на инфицирование и экссудацию, так как эти факторы тормозят излечение. Все это, конечно, говорит в пользу применения аутологичной БоТП [Bambal D.2012].

Таким образом, как было сказано выше, аутологичная БоТП содержит цитокины, факторы роста, хемокины и фибрин, полученные из крови пациента, механизм действия которого заключается в молекулярной и

клеточной индукции нормального процесса ранозаживления. Проведенные исследования показали эффективность применения БоТП в целях регенерации в различных областях медицины. В литературе не встречаются описания нежелательных эффектов.

6.3.Способы получения аутологичной богатой тромбоцитами плазмы

До сих пор ведутся научные дискуссии относительно протоколов изготовления и оборудования для получения БоТП. Научный и практический интерес представляет получение плазмы путем однократного медленного центрифугирования. Однако дизайн выполненных исследований, группы пациентов, оценка клинической эффективности, методики применения, аппараты для изготовления во многом различаются [Villela D.L. 2010], что объясняет отсутствие стандартизованных способов получения и методов применения аутологичной БоТП.

В литературе протоколы изготовления аутологичной БоТП разнятся. В наиболее общем виде способ получения можно описать следующим образом: венозную кровь пациента собирают натошак, добавляют антикоагулянт. Лучше всего в качестве антикоагулянта использовать цитрат натрия, так как другие антикоагулянты приводят к изменению морфологии тромбоцитов: они слипаются и становятся сферическими вместо дискоидных. Затем кровь центрифугируют при различных скоростях до тех пор, пока она не разделится на 3 слоя (бедная тромбоцитами плазма (PPP), богатая тромбоцитами плазма (PRP) и «красные» кровяные клетки). Обычно проводят 2 вращения. Первое вращение («тяжелое») отделяет PPP от эритроцитов и PRP. Второе вращение («мягкое») отделяет эритроциты от PRP. Материал с наибольшей плотностью PRP находится на дне пробирки. В настоящее время эта методика практически не используется, так как она сложна в использовании и вызывает механические и химические

повреждения тромбоцитов [Fernandez-Barbero J.E. 2006]. Существует методика изготовления аутологичной БоТП с использованием однократного медленного центрифугирования, позволяющего тромбоцитам оставаться взвешенным в плазме, а лейкоцитам и эритроцитам опускаться на дно пробирки, в отличие от быстрого центрифугирования, приводящего к механической травматизации тромбоцитов и подъему температуры плазмы, что, в свою очередь, влечет за собой изменения в микроструктуре клеток и вызывает частичную активацию факторов роста, в результате чего часть из них теряется [Anilkumar K. 2009]. Процесс изготовления плазмы путем однократного медленного центрифугирования выглядит следующим образом: из периферической вены пациента в 4 специальные вакуумные пробирки, по 9 мл каждая, содержащих раствор тринатрия цитрата 3,8%, забирают 36 мл крови. Пробирки переворачивают 4-5 раз, чтобы смешать кровь с цитратом. Кровь центрифугируют в течение 8 мин с силой вращения центрифуги 1500 об/мин. В результате вращения кровь в пробирках разделяется на три слоя: нижний – эритроциты, средний – прослойка лейкоцитов, верхний – плазма, обогащенная тромбоцитами, которую также можно разделить на 3 слоя: верхний – 2 мл - плазма, в которой концентрация тромбоцитов равна таковой в крови, средний - 1 мл – богатая тромбоцитами плазма (в 2-3 раза превышающая физиологическую концентрацию), нижний – 1 мл – плазма, наиболее богатая тромбоцитами. [Ахмеров Р.Р. 2011].

Таким образом, существует множество методик изготовления аутологичной БоТП, до сих пор ведутся научные дискуссии относительно морфофизиологической и экономической целесообразности использования.

7. Инновации в лечении язвенных поражений кожи

7.1. Инновационный способ лечения трофической язвы

С целью изыскания новых возможностей лечения трофических язв нами разработан способ, характеризующийся включением в комплексную терапию (антибиотикотерапия системного и местного действия с учетом чувствительности микроорганизмов, дезинтоксикационной терапии, сосудистых препаратов (трентал) наружного назначения PRP процедуру с плазмой больного в количестве от 3,0 до 5,0 мл путем обкалыванием вокруг очага язвы 1 раз в неделю и накладывания на очаги поражения стерильной марлевой салфетки намоченной активизированным кремнистым раствором (ASW – тоник Фатидерм) в течение 10 дней с последующим применением 5% кремнистого крема (дисдерм) 2 раза в день в течение 30 дней.

PRP-терапия – это способ, основанный на применение собственной плазмой крови, обогащенной тромбоцитами. Это одна из самых современных и молодых методик лечения в практической медицине. Содержащиеся в PRP «факторы роста» провоцируют интенсивное восстановление пораженного участка ткани.

«ASW – тоник Фатидерм» – тоник, органическая минеральная вода, состоит из комплексов кремнистых (SiO_2) и REE лечебных минералов Узбекистана, препарат отечественного производства ООО «FATIDERM». pH -7,9,. Благодаря уникальному составу тоник активизирует процессы регенерации клеток слизистых оболочек и кожи, обладает противовоспалительным, регенерирующим, антиоксидантным, тонизирующим свойствами, также способствует уменьшению уровня колонизации условно-патогенных микроорганизмов (*Stafhylococcus spp.*, *E. Coli*, *candida spp.*, вирусов) в очагах поражения. Наличие минералов (*Na*, *K*, *Ca*, *Mg*, *Fe*, *Zn*, *Au* и др.) повышает лечебный эффект лекарственных препаратов.



Крем «Disderm» (Дисдерм) - кремнистый крем для наружного применения. Обладает регенерирующим, увлажняющим, смягчающим и очищающими свойствами. Присутствия кремния и обогащенного минерала с высоким содержанием двух- и трехвалентного железа, кальция, магния, калия, фосфора. способствует восстановлению функции клеток дермы-фибробластов, увеличивает метаболизм и питание клеток, повышает упругость и эластичности всех типов кожи.

Способ лечения трофической язвы кожи осуществляется следующим образом: перед процедурой PRP- терапии у больного проводят комплексное ИФА (иммуноферментный анализ) исследования обследование на инфекции передаваемые половым путем (ИППП) и ВИЧ – инфекцию, гепатитов В и С, вирусную инфекцию (I и II типов и др. (в том числе на антитела COVID-19). На коже в очагах поражения проводятся микробиологические исследования на выявляемость и на степень колонизации патогенных микроорганизмов.

Инновационный способ лечения трофической язвы кожи апробирован у 30 больных в возрасте от 2,5 года до 50 лет.

Результаты PRP – терапии с применением активизированных кремнистых растворов показали положительную динамику кожно-патологического процесса, характеризующегося заметной регенерации и заживления очагов поражения, рассасывания язвенно- инфильтративных

процессов, уменьшения степени колонизации патогенных микроорганизмов, улучшения общего состояния больного и качество жизни.



Фото 1. Б. М. 27 лет. До лечения после лечения на 7-й день лечения.

Результаты клинических наблюдений показали, что использование кремнистого крема (дисдерм) способствовал значительному заживлению очагов поражения. Во время лечения побочных эффектов не отмечали.

Таким образом, инновационный способ лечения с применением PRP терапии с использованием активизированных кремнистых растворов и кремнистого крема способствует снижению степени колонизации патогенной микрофлоры и уменьшения лимфоцитарного инфильтрата, приводит к усилению противовоспалительного эффекта с обеспечением регенерации кожи. На наш взгляд, такое явление можно объяснить содержащиеся в PRP процедуре «факторов роста» - обогащённых тромбоцитов, что провоцируют интенсивное восстановление пораженного участка ткани, а также составляющим компонентами в активизированной кремниевой воде и кремнистого крема лечебных минералов, что способствует повышению эффективности действующего препарата и стимулирует регенерации клеток.

7.2.Способ клеточной технологии в лечении трофических язв.

Для лечения трофических язв нами использована клеточная технология на основе выделяемых фибробластами паракринных молекул.

Биологическим материалом может быть близкий родственник (мать или отец или брат и др.) При этом производится биопсия кожи для получения

фибробластов. Забор материала осуществлялся при соблюдении всех этических и гигиенических норм.

Культивирование фибробластов: Изолированные фибробласты были культивированы *in vitro* до достижения оптимальной клеточной плотности, обеспечивающей активное выделение паракринных факторов. Использовалась стандартная питательная среда, обогащенная необходимыми факторами роста.

Стимуляция паракринной активности:

Фибробласты подвергались целенаправленной стимуляции с использованием комбинации биохимических факторов, чтобы увеличить секрецию молекул, связанных с паракринной сигнализацией, включая цитокины, факторы роста (например, TGF- β , VEGF, FGF) и экзосомы.

Применение клеточного секрета:

Полученный секрет, содержащий паракринные молекулы, был очищен от клеточного дебриса с помощью центрифугирования и фильтрации. Очищенный продукт был введен на поврежденный кожный покров пациента.

Результаты:

Результаты клинического наблюдения показали ускоренный процесс заживления язвенного очага, приподнятость дно язвы, появление грануляционной ткани, улучшение эластичности и структуры кожи. Отмечено снижение воспалительного ответа и формирование здорового эпителия в области очага поражения. Эти эффекты связываются с активным действием факторов паракринной сигнализации, стимулирующих пролиферацию и миграцию клеток, а также ангиогенез.

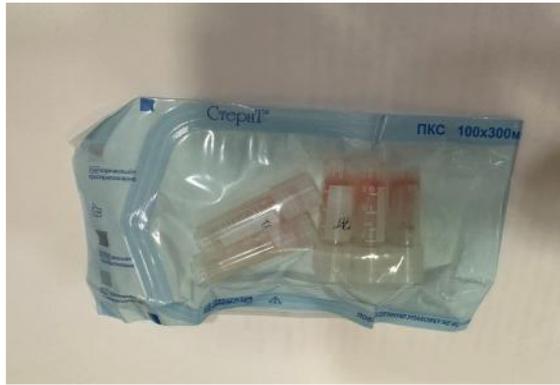


Фото: Культивированные фибробласты



Фото Б.22 г. Диагноз: Трофическая язва до лечения



Фото Б.22 г. Диагноз: Трофическая язва.
(процедура клеточной технологии)



Фото Б. тот же больная. На 2-й недели после клеточной технологии.
(2-й курс)

Таким образом, клеточная терапия, основанная на использовании паракринных молекул, выделяемых фибробластами, продемонстрировала высокую эффективность в регенерации язвенного очага у больной. Данный подход может служить перспективной альтернативой клеточным методам в регенеративной медицине.

7.3. Комбинированный способ фототерапии при лечении язвенных поражениях кожи.

С целью изыскания новых методов лечения нами разработан инновационный способ лечения, характеризующиеся назначением тромбоцитарной массы собственной плазмы крови пациента в количестве 5 мл смешанного в 150 мл стерилизованной активизированной кремнистой воде («ASW- фатидерм»), который назначался путем впрыскивания на кожу очагов поражения и с последующим назначением фототерапии 633 1 раз в день в течение 10 дней.



Фото. Процедура фототерапии у больного язвенной пиодермии.

Комбинированное лечение фототерапии с тромбоцитарной массой получали 15 больных с хронической язвенной пиодермией в возрасте от 12 до 67 лет. Среди них лица женского пола составили – 6 и мужского – 9. У всех больных проводили клинические, микробиологические и статистические методы лечения.

Результаты микробиологических исследований показали положительную динамику регресса очагов поражений на 3-4 – й день лечения, уменьшения степени колонизации условно-патогенных микроорганизмов *staphylococcus spp.* в 6,1 раз на 5-й день лечения по сравнению до лечения. Побочных эффектов от проводимой терапии больные не отмечали.

Фото: Б. 40 л. Диагноз: Язвенно – некротический васкулит



Фото Б. 55 л. Диагноз: Трофическая язва



Фото Б.22 л. Диагноз: Трофическая язва



Оценка состояние гистологической и морфометрической картины биоптатов кожи на фоне разработанных методов наружной терапии.

Параллельно нами была оценена состояние гистологической картины биоптатов кожи на фоне разработанной патогенетической терапии. Результаты гистологической картины биоптатов кожи у больных с ЯПК выявило положительную динамику морфологической картины.

Морфологические изменения трофических язв у больных, получавших стандартное лечение I- группы.

Ткани, взятой вокруг трофических язв, дали отвердеть в 10% нейтрализованном формалине в течение 72 часов, кусочки тканей промывали проточной водой в течение 3-4 часов, затем обезвоживали в 70, 80, 90, 96, 100% спиртах и хлороформе, после чего были приготовлены блоки из парафина с добавлением воска. Парафин со срезов удаляли сплавлением с помощью ксилола при термостате 57°C, затем окрашивали в растворах гематоксилин-эозина для изучения общего гистологического состояния кожной ткани.

Морфологические изменения трофических язв, развивающихся на коже, в основном развиваются в дермальном слое кожи, богаты кровеносными сосудами. Трофические язвы в основном развиваются как осложнение некоторых заболеваний (заболеваний венозных сосудов, флебитов, сахарного диабета, системных заболеваний, нейротрофических и др.). Именно в результате дисваскуляризации сосудов кожи развиваются дистрофические изменения в дерме, что приводит к развитию процесса гипоксии. Роль фибробластов и макрофагов преимущественно из клеток мезенхимальной природы на дермальном слое кожной ткани (макрофаги, гистиоциты, жировые клетки, фибробласты, мезенхимальные клетки и др.) считается крайне значимой. Именно множественное расположение фибробластов в области дермы и гиподермы занимает важное место в нарушении кровообращения в микроциркуляторном русле, нарушении выработки фермента гиалуронидазы

и гиалуроновой кислоты, вырабатываемых фибробластами. Благодаря тому, что гиалуроновая кислота - одно из основных веществ экстрацеллюлярного матрикса, является гидрофильным веществом, которое относится к семейству гликозаминогликанов, она обеспечивает периодическую задержку тканевой жидкости и обнаруживается при микроскопических исследованиях в виде феномена метакромазии. Фибробласты вырабатывают одновременно и гиалуроновую кислоту, и фермент гиалуронидазу, что обеспечивает сохранение насыщения тканевой жидкости при нормальном кровообращении. Именно повышенная концентрация гиалуроновой кислоты в строме в результате нарушения кровообращения в микроциркуляторном русле усиливает инфильтрацию жидкости из сосудов в ткани в этих областях, и вызывает инактивацию и блокировку фермента гиалуронидазы в состоянии гипоксии. В результате в тканях возникает мукоидное набухание, деструктивные изменения во всех волокнистых структурах в строме и интерстициальные опухоли разных степеней.



Рисунок 7.3.1. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. На поверхности раны сформировались деструкция коллагеновых волокон и гиалиновых однородных структур (1), деструктивно-некротические

изменения в фиброзных тканях (2). Между пучками фиброзных волокон выявляются интерстициальные опухоли (3). Краска Г-Э. Размер 4x10.

Это, в свою очередь, приводит к резкому нарушению реологических свойств крови в стенке сосуда и в сосудистом пространстве микроциркуляторного русла (вследствие гидрофильности гиалуроновой кислоты) и развитию феномена сладжа.



Рисунок 7.3.2. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Прогрессирующая неспецифическая воспалительная гранулема. Множество очагов макрофагальной инфильтрации вокруг кровеносного сосуда (1). Определяются очаги склероза вокруг кровеносных сосудов, подвергшихся облитерации (2). Вокруг макрофагов выявляется активная пролиферация тучных клеток (3) и гистиоцитов (4). Окраска Г-Э. Размер 40x10.

Большое значение имеет продолжительность процесса, а в связи с быстрым синтезом коллагеновых волокон в мукоидных набухающих участках, а также нарушениями кровообращения, фибриноидным набуханием, являющимся следующей стадией мезенхимальной дистрофии, и преципитацией реакции под влиянием IgA из сосудов большинство набухших структур становятся однородными по цвету и приводят к развитию гиалиноза. В результате развиваются фибриноид в стенках сосудов и пучках фиброзных волокон, фибриноидное набухание в стенке сосуда, фибриноидный некроз и

гиалиноз. Это приводит к полному эрозивно-некротическому изменению, десквамации слоя эпидермиса и продолжается с последующим изъязвлением (см. рис. 7.3.1, 7.3.2, 7.3.3).

Фибриноидное набухание стенки сосуда приводит к резкому сужению полости сосуда и углублению процесса. Клинически эти изменения прогрессируют с образованием полупрозрачной грануляционной ткани и формированием грубых келоидных рубцов вокруг очагов поражения.

В результате острого разрыва сосудов наблюдаются реакции резидентных макрофагов и мигрирующих макрофагов, включая трансформацию макрофагов в фибробласты и неспецифическое гранулематозное воспаление в этих участках, а также образование крупных метапластических эпителиоидных клеток.

В результате на этом участке завершается процесс фибриноидного набухания и фибриноидного некроза. В результате клинически и морфологически в трофических ранах возникают глубокие дефекты, а вытекший из поврежденных сосудов фибриноген вокруг раны превращается в белый фибрин и продолжается с образованием фиброзных отложений по краям раны. В результате процесс обостряется и распространяется с сужением демаркационной линии.

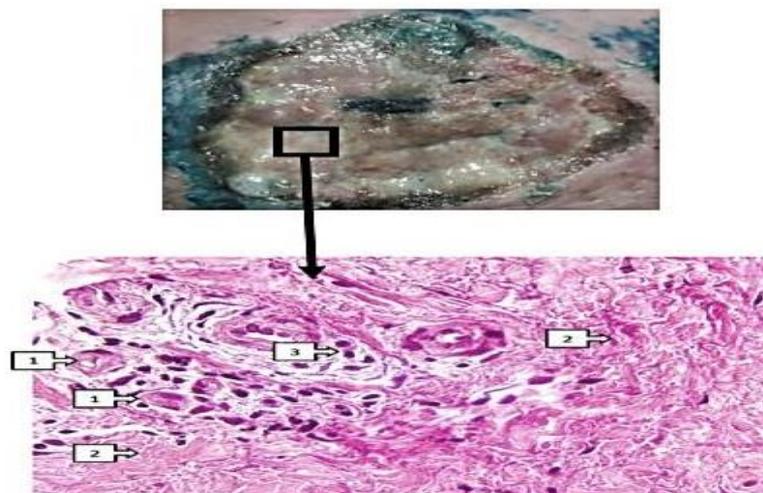


Рисунок 7.3.3. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Язвенно-некротический васкулит. Вокруг сосуда выявляются грубые фиброзные структуры и гигантские метапластически измененные макрофаги (1), а также струнья (мошонка) деструктивно-некротически измененной массы клеток некротических бляшек (2). Вокруг сосуда выявляется инфильтрация небольшого количества лимфоцитов (3). Краска Г-Э. Размер 40x10.

Безусловно, роль тучных клеток в строме также важна в этом процессе и осуществляется через мезенхимальный ответ при хроническом типе воспаления. Микроскопически в результате повышенной пролиферативной активности макрофагов и гистиоцитов, избыточного синтеза коллагеновых волокнистых структур вокруг сосудов и увеличения фибробластов хронические воспалительные инфильтраты с очень сложной клеточной структурой сопровождаются образованием гранулем, а фиброзные структуры растрепываются, распадаются и деструкцируются, а местами появляются очаги фиброзного набухания. (Смотрите рис. 3). В сущности процесса гиперпролиферация мезенхимальных клеток и деструкция коллагеновых волокон на различных уровнях воспалительного инфильтрата сопровождаются продолжением процесса фибринообразования. С клинико-морфологической точки зрения процесс протекает длительно, продолжаются пролиферативные воспалительные процессы, очаги фибриноидного набухания и ответная реакция здоровых тканевых структур с образованием очагов фокального некроза, ответная реакция здоровых тканевых структур приводит к расширению пораженного участка и области вокруг.

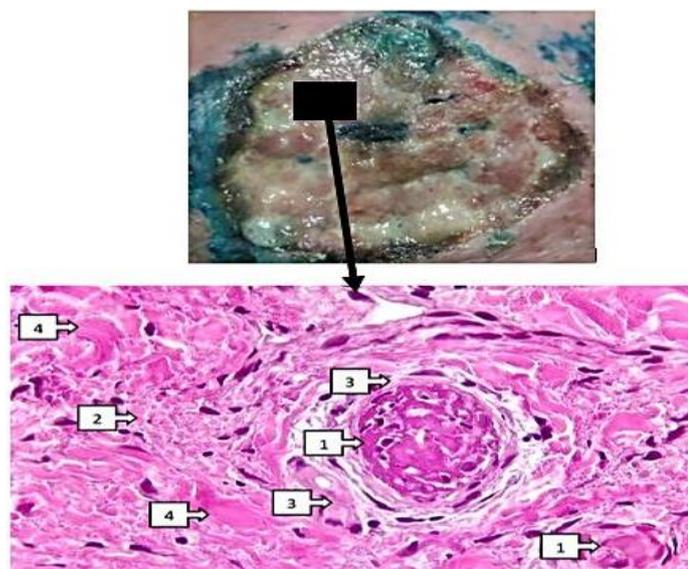


Рисунок 7.3.4. Некротическая гранулема и очаг макрофагальной инфильтрации вокруг (1), определяются повреждение фиброзных волокон фибриноидному некрозу, деструкция и разрушение пучков на отдельные волокна (2), в ткани вокруг гиалина определяются грубоволокнистые структуры (3), определяются гиалиноз ткани и гиалиноидные структуры (4). Краска Г-Э. Размер 40x10.

Именно трофические раны на поврежденных участках приводят к снижению свойства фагоцитоза макрофагов, трансформации резидентных макрофагов в разные типы клеток (фибробласты, эпителиоидные клетки, гистиоциты и др.) в процессе альтерации, производству большого количества лейкотриенов поврежденными клетками и повышению местной ответной реакции на процесс некроза в ткани и резкому развитию очага вторичной альтерации. Именно дегрануляция жировых клеток, свободно расположенных в ткани, приводит к резкому увеличению флегогенных факторов в ткани и преобладанию мезенхимального ответа и развитию процесса некроза. Макроскопически приводит к образованию язвенных дефектов. Увеличение пролиферативной активности эндотелиоцитов в стенках сосудов приводит к дальнейшему сужению полости сосуда. Как результат - затягивание процесса заживления. (Смотрите рис. 7.3.4).

Следовательно, неэффективность стандартного лечения обусловлена отсутствием направленности на устранение основных морфологических субстратов в этиопатогенетических звеньях трофических язв, нарушением взаимоотношений между сосудами и тканями, образующимися при трофических язвах, резким снижением фагоцитирующей активности макрофагов, резким снижением процессов репаративной регенерации. В результате продолжается нарушение трофики по вене и, как следствие, ситуация ухудшается. При определении тактики эффективность лечения не наблюдается, если оно не направлено на устранение блокирующих факторов, возникших в связях экстрацеллюлярный матрикс+клетки+сосуды в ткани или восстановление взаимосвязанности нарушенных звеньев. Низкая эффективность стандартного лечения подтверждается вышеперечисленными патоморфологическими изменениями.

Морфологические изменения кожи пациентов, лечившихся стандартным лечением + PRP (обогащенная тромбоцитами плазма) II- группы.

При лечении трофических ран различной этиологии изучали развитие репаративной регенерации в виде замещения (частичное восстановление и рубцевание) в поврежденных тканях кожи при использовании обогащенной тромбоцитами плазмы PRP при стандартном лечении. Именно при лечении обогащенной тромбоцитами плазмой выявляются следующие морфологические изменения. Морфологически в трофических ранах, развившихся в кожной ткани, в 1-й группе изучали резкое снижение фагоцитарной активности макрофагов с последующим резким усилением процесса апоптоза и некроза. Именно благодаря фагоцитарной активности макрофагов развитие репаративной регенерации при трофических ранах должно происходить быстро. Выше была изучена большая продолжительность процесса альтерации и некроза в трофических ранах в связи с тем, что именно макрофаги имеют низкое качество и количество, и трансформируются в другие типы мезенхимальных клеток. В результате применения обогащенной тромбоцитами плазмы в качестве местного лечения

при стандартном лечении восстановление трофики в зоне повреждения, выработка различных биологически активных веществ приводит к усилению процесса репаративной регенерации. Активные вещества богатой тромбоцитами плазмы PDGF стимулируют пролиферацию макрофагов, фибробластов, волокон и гистиоцитов из мезенхимальных клеток в области повреждения под влиянием тромбоцитарного фактора роста. В результате в этой области определяется развитие процессов ангиогенеза и васкуляризации (смотрите рис. 5,6). Это, в свою очередь, приводит к усилению процесса ангиогенеза и развитию экссудативной фазы воспаления в зонах длительного раневого дефекта в плане клинической морфологии. Усиливает миграцию лейкоцитов из сосудов. В области раневого дефекта наблюдается острый и хронический иммунный ответ. Миграция лимфоцитов служит элиминации экзогенных вторичных инфекционных факторов в раневых очагах (смотрите рис.7.3.5.).

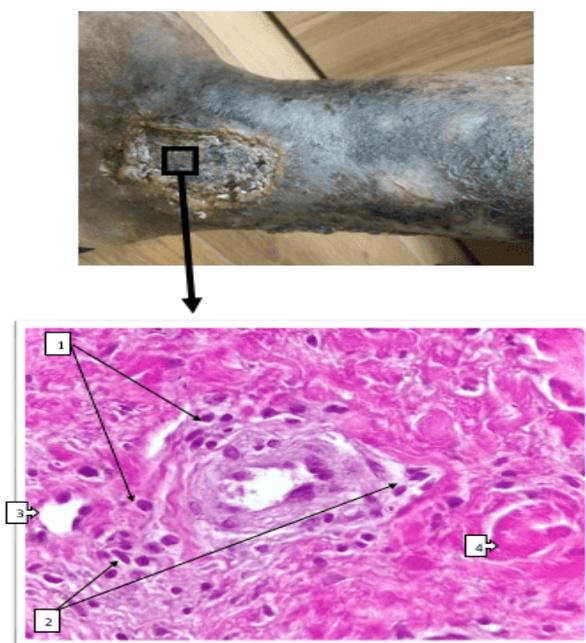


Рисунок 7.3.5. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. СТАНДАРТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ + PRP. Вокруг кровеносного сосуда выявляется лимфоцитарная и моноцитарная инфильтрация (1). В стадии поствоспалительной пролиферации вокруг сосуда выявляют пролиферацию фибробластов (2), очаги реваскуляризации (3). Очаги коагуляционного некроза (4). Краска Г-Э.Размер 40x10.

Ещё одним активным ингредиентом плазмы, обогащенной тромбоцитами, является трансформирующий фактор роста TGF (относящийся к семейству цитокинов), который усиливает процесс апоптоза, метаболический процесс в поврежденных и дистрофически измененных клетках, обеспечивает резкую стимуляцию неактивных и гипофункциональных резидентных макрофагов в очаге, подвергнутых альтерации, обеспечивает трансформацию дефицитных мезенхимальных клеточных компонентов для репаративной регенерации в области раны и формирует острую воспалительную картину. Стимулирует миграцию стволовых клеток по кровеносному сосуду в эту область. В результате относительно формируется и продолжается процесс репаративной регенерации с разрастанием разреженных фиброзных структур в пространстве фибриноидных очагов вокруг гранулем. На дне раны формируются фиброзно-тканые структуры, которые продолжают образование грубых рубцов с шероховатой поверхностью, подвергшихся коагуляционному некрозу. Это приводит к более короткому периоду саногенеза по сравнению со стандартными параметрами лечения в 1-й группе. (см. рисунки 5.2.7; 5.2.8).

Белок IGF, содержащийся в плазме, обогащенной тромбоцитами, является инсулиноподобным фактором роста, который резко стимулирует питание в мезенхимальных и эпителиальных клетках, восстановленных в поврежденной области, и повторно стимулирует процесс репаративной регенерации за счет того, что процесс катаболизма находится на следующей стадии от процесса анаболизма и обеспечивает его проявление в виде субституции. Фактором роста фибробластов в плазме, обогащенной тромбоцитами, является FGF, который усиливает рост фибробластов, присутствующих в ткани во время фазы пролиферации воспаления, и стимулирует эволюционное нахождение рубцов и синтез коллагена вокруг дефектов, которые возникают в ткани.

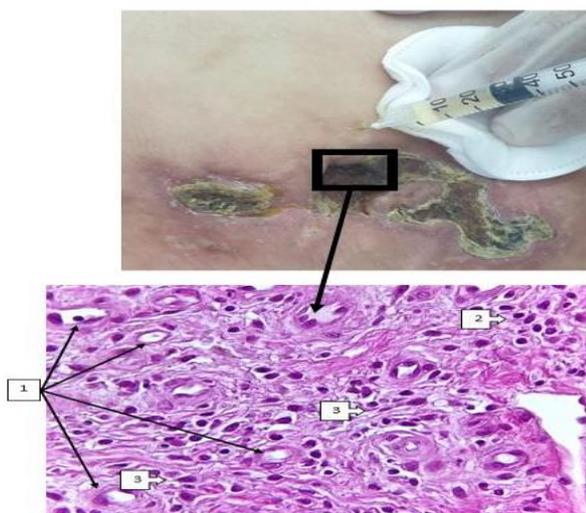


Рисунок 7.3.6. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Проведено стандартное лечение + PRP. Очень много очагов васкуляризации (1), лимфоцитов в промежуточной ткани и одиночно расположенных нейтрофилов (2), тучных клеток достаточно мало. Очаги резидентных макрофагов трансформированных в гистиоциты. (3). Краска Г-Э. Размер 40x10.

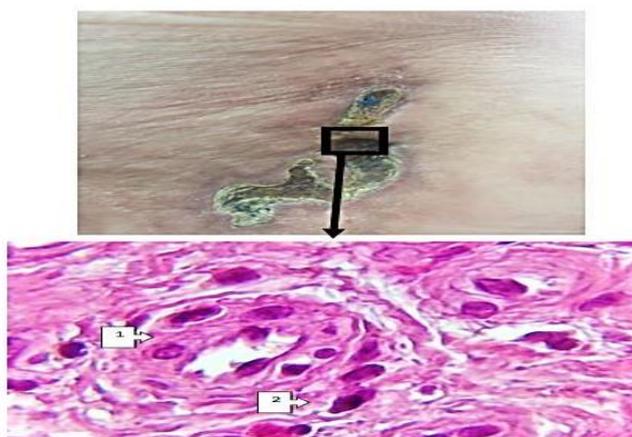


Рисунок 7.3.7. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Проведено стандартное лечение+PRP. Повышенная пролиферативная активность клеток эндотелия в очаге васкуляризации (1), фагоцитарная активация макрофагов в периваскулярной сфере и накопление вокруг деструктивно измененных тканей (2) (этот процесс является активным проявлением макрофагов - признаком того, что происходит резкое развитие репаративной регенерации, вызывая фагоцитарную активность в областях, подверженных воздействию некроза). Краска Г-Э. Размер 100x10.

Вышеуказанные морфологические изменения при микроскопическом исследовании кожной ткани обнаруживаются в компонентах, сохранившихся с поврежденных участков кожи под воздействием активных веществ, содержащихся в плазме, обогащенной тромбоцитами, главным образом ангиогенеза, который был восстановлен из-за ответной реакции мезенхимальных клеток, и резкого увеличения синтеза коллагена в промежуточной ткани.



Рисунок 7.3.8. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Проведено стандартное лечение + PRP. На поверхности раны образовалась белковая вуаль. Прогрессирующий медленно формирующийся многослойный плоский эпителиальный слой (1), в дерме слишком много инфильтрации лимфо-макрофагальных клеток (2), в промежутке определяется набор активно пролиферирующих фибробластов (3) в каждой разной текстуре. Краска Г-Э. Размер 40x10.

В поврежденном участке возникает относительно острая воспалительная картина. Ответные реакции в кровеносных сосудах - один из признаков плохо сформированного экссудативного воспаления, приводят к сокращению продолжительности процесса саногенеза, что нашло подтверждение на 6,8 рисунках. Клинически, морфологически и макроскопически наблюдается уменьшение демаркационной пограничной линии вокруг кожи, гиперемия вокруг раны, образование опухолей по краю раны. В результате появления и

быстрого обезвоживания волокнистой на вид розово-красноватой грануляционной ткани на поверхности раны, она продолжается с появлением черноватой вуали серовато-желтого цвета. Это характеризуется небольшой миграцией образовавшейся крупозной завесы и продолжением периода повреждения.

Следовательно, основным субстартом вышеуказанных морфологических изменений является то, что в практике стандартного лечения обогащенной тромбоцитами плазмой при трофических язвах в поврежденных участках формируются морфологические признаки острого воспаления. Этот процесс, в свою очередь, определяется реваскуляризацией участков с трофическим нарушением, дегрануляцией тучных клеток на этих участках и образованием воспалительного инфильтрата. Эти изменения клинически и морфологически сопровождаются четким формированием демаркационной границы вокруг трофических язв, повышением местной температуры за счет вздутий и расширения сосудов в этой области. В результате в области трофически поврежденной кожи формируются несколько ограниченный очаг некроза и тонкая корочка с коагуляционным некрозом, а также морфологические изменения в виде субституции процессов репаративной регенерации. Это, в свою очередь, продолжается с образованием грануляционной ткани (макроскопически красновато-розовая фиброзная поверхностная ткань) в области поврежденной кожи и мягких тканей.

Одним словом, фактором, влияющим на продолжительность функциональной активности макрофагов, являющейся основным звеном саногенеза трофических язв, становятся промежуточные продукты действия стимуляторов в очаге некроза, т. е. метаболиты (патогенные микроорганизмы, нуклеотиды, молекулы анионов, структуры антител против оболочки макрофагов, разложившихся тканевых и клеточных компонентов), а в ранах развивается трофический коагуляционный некроз и, в редких случаях, продолжается повышение пролиферативной активности макрофагов и образование грубых шрамов на краях вокруг очагов колликативного

некроза. Вышеуказанные изменения наблюдаются именно под влиянием стандартного лечения и биологически активных веществ в плазме, обогащенной тромбоцитами. С клинко-морфологической стороны продолжается устранение грубых дефектных рубцов, келоидных рубцов, странгуляционных рубцов. Но эффект PRP, используемый при лечении пациентов 2-й группы, характеризуется тем, что ускорение процесса репаративной регенерации в 1,5-2 раз быстрее по сравнению с эффективностью при лечении трофических язв у пациентов 1-й группы нашло свое подтверждение в вышеуказанных морфологических исследованиях.

Морфологические изменения трофических язв у больных, получавшие инновационный метод терапии III- группы.

При лечении трофических язв были обнаружены следующие морфологические изменения в ранах при стандартном лечении + prp (плазма, обогащенная тромбоцитами) + увлажнение кремниевой жидкостью и нанесение крема Дисдерм. В частности, в структуре ткани кожи, которая изменилась и потеряла слои эпидермиса и дермы, определяется пролиферация активных клеток вокруг сосудистой стенки как поверхностных, так и глубоких слоев.

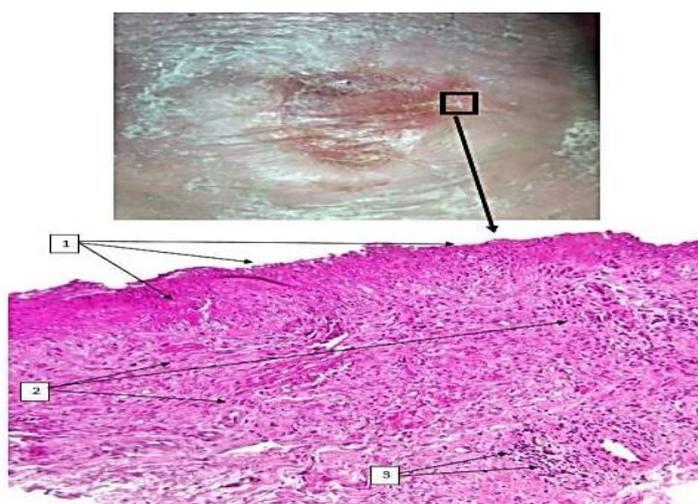


Рисунок 7.3.9. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Очаги эпителизации (1), которые заново прогрессируют. Очаги с резко повышенной

пролиферативной активностью фибробластов в дерме (2). Сохранялись очаги инфильтрации лимфоцитами (3), (что указывает на усиление пролиферации). Краска Г-Э. Размер 40x10.

Именно резкое восстановление процесса репаративной регенерации под воздействием плазменной кремниевой жидкости + крема Дисдерм, обогащенной тромбоцитами в процессе лечения, сохранение влаги на раневой поверхности стимулирует быстрое образование грануляционной ткани. Этот процесс морфологически способствует снижению скорости свертываемости на поверхности раны и, как влияющий фактор на процесс репаративной регенерации, появлению функционально активной формы гистиоцитов, фибробластов и трансформированных макрофагов. А именно, прогрессирование молодой соединительной ткани под тонкой завесой, сформированной макроскопически на поверхности раны (грануляция), сопровождающееся образованием разреженной волокнистой поверхности, создает клинические морфологические изменения в динамике.

Именно на основе соединительной ткани дермы и с появлением пролиферативного лимфо-гистиоцитарного инфильтрата на сосудистой стенке, образованием очагов васкуляризации, которые значительно увеличились, возобновлением трофики, продолжается резкое развитие постострой фазы пролиферации. В области дермы и гиподермы было обнаружено, что молодая соединительная ткань, то есть грануляционная ткань, росла и увеличивалась. В очаге эпителизации частичное обнаружение неровной поверхности, многослойного плоского эпителиального дна вызвано действием кремниевой жидкости и крема Дисдерм, уменьшение степени пересчета указывает на сохранение восстановленных очагов эпителизации по отношению к тактике лечения 2-й группы. Это нашло свое подтверждение на рисунке 9, где показано, что это вызывает расширение реэпителизационных швов на раневой поверхности.

Образование всевозможных трансформирующих типов фибробластов, гистиоцитов, макрофагов из молодых клеток соединительной ткани в структуре очагов репаративной регенерации в дерме означает, что фаза пролиферации острого воспаления находит резкое развитие, а накопление лимфоцитов приводит к затуханию процесса. (7.3.10.)

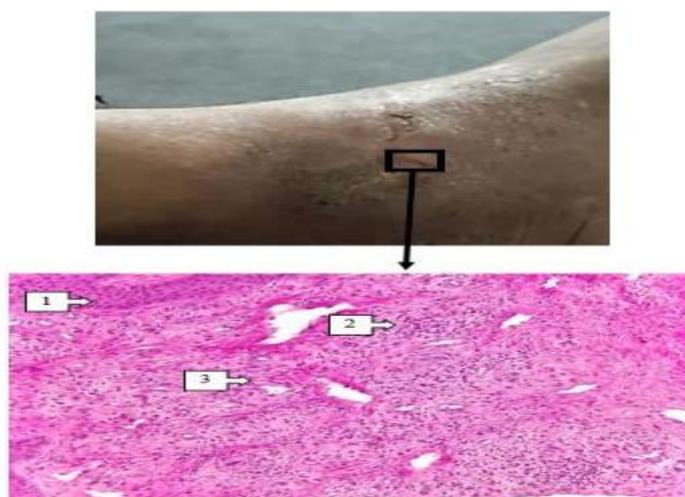


Рисунок 7.3.10. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Очаги эпителизации на краях раны (1). Очаги с резко повышенной пролиферативной активностью фибробластов в дерме (2). Очаги лимфоцитарной инфильтрации сохранены (3). Краска Г-Э.Размер 10x10.

Аргирофильные волокна расположены в хаосе между клетками, определяется накопление щелочных гликозамингликанов в промежуточном веществе. Определено, что объём лейкоцитарной инфильтрации, характерной для воспалительного процесса в этой грануляционной ткани, резко уменьшился. Увеличение количества лимфогистиоцитов в стенках кровеносных сосудов и вокруг них, даже в глубоких участках воспаленной грануляционной ткани, подтверждает развитие пролиферативной фазы. В мягких тканях вокруг таких очагов отек наряду с деструктивностью указывает на то, что молодая соединительная ткань разрослась и увеличилась, и появились очаги репаративной регенерации.

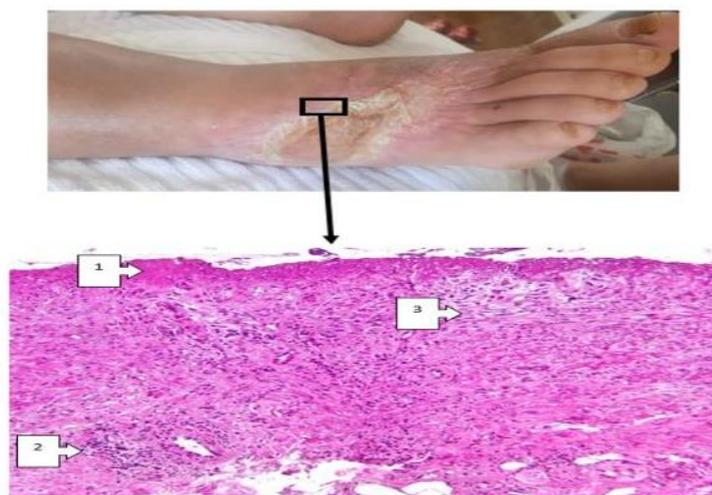


Рисунок 7.3.11. Макро- и микроскопический вид кожной ткани. Очаги эпителизации (многослойный плоский эпителий) на краях раны (1). Очаги с резко повышенной пролиферативной активностью фибробластов в дерме (2). Очаги лимфоцитарной инфильтрации сохранены (3). Краска Г-Э. Размер 10x10.

В заключение можно сказать, при комплексном лечении трофических язв + PRP (плазма, обогащенная тромбоцитами) + кремнистым раствором и кремом Дисдерм для репаративной регенерации в нанесенных ранах продолжается с сокращением процесса реабилитации в отношении у пациентов 1-й и 2-й групп, с развитием процесса эпителизации на поверхности. Одним из основных критериев эффективности лечения является образование на поверхности раны, обработанной обогащенной тромбоцитами плазмой и кремнистым раствором, а также кремом Дисдерм, розовато-серой пленки, формирование демаркационной линии именно вблизи раны подтверждает уменьшение процесса альтерации. Микроскопически быстрое развитие лимфомакрофагальной инфильтрации, напоминающее хроническое воспаление, наблюдаемое при трофических ранах, объясняется развитием продуктивной фазы воспаления, усилением пролиферации фибробластов, сохранением влаги на поверхности дермы с резким усилением стимуляции очагов эпителизации. В то же время тот факт, что связанный с сосудами дефицит при трофических язвах восстанавливается путем реваскуляризации, а

трофика тканей восстанавливается в процессе репаративной регенерации и продолжается с полным обнаружением очагов субституции в области очагов, нашел свое подтверждение с помощью вышеуказанных микрокартинок.

Следовательно, результаты, полученные при лечении трофических язв стандартным лечением + PRP (плазма, обогащенная тромбоцитами) + увлажнение кремниевой жидкостью и кремом Дисдерм у пациентов 3-группы нашли свое подтверждение, что результаты намного превосходят и эффективнее, чем у пациентов 1-й и 2-й групп.

7.4. Морфометрическая оценка биоптатов кожи у больных с язвенными поражениями кожи на фоне получавшей терапии.

Получены средние значения с учетом общего количества клеток в патологическом процессе в зоне повреждения при трофических язвах, а также количества и размера кровеносных сосудов у пациентов 1-й группы, получавших стандартное лечение.

Математический расчет клеток, кровеносных сосудов и других мезенхимальных структур в поле зрения, увеличенном в 200 раз, с использованием гематоксилин-эозинового красителя гистологических разрезов, подготовленных с целью изучения того, в какой степени развиваются трофические язвы, количественный и качественный показатели, которые встречаются в морфологии тканей и клеток, были проведены с помощью морфометрического программного обеспечения NanoZoomer (REF C13140-21.S/N000198/HAMAMATSU PHOTONICS /431-3196 JAPAN) Hamamatsu (NDP.view 2, NanoZoomer Digital Pathology Image) Числовые и указательные величины, полученные в ходе этого процесса, были проанализированы статистически и математически, и выражены показателями уровня надежности.

Патологические изменения, происходящие при трофических язвах, составляют $64,2 \pm 1,5$ в пересчете на общее количество клеток, указанных в

морфометрическом анализе указанной поверхности. А именно, численные и качественные изменения клеток и волокнистых структур по соотношению друг к другу через этот показатель заключаются в следующем. (Табл 7.4.1.)

Таблица 7.4.1.

№	Группы	Макрофаги	Лимфоциты SALT-структуры	Площадь фибробластов	Площадь васкуляризации	Площадь коллагеновых волокон
1	Контрольная группа	17,8±0,5	11,9±0,3	11,9±0,5	36,2±0,03	21,9±1,05
2	Стандартное лечение	53,2±0,05	9,7±0,07	5,7±0,05	11,7±0,06	19,7±0,05

Степень надежности по отношению к показателям контрольной группы *-

$P \leq 0,01$; **- $P \leq 0,001$

Следующие относительные изменения клеток в очагах трофической язвы в 1-й группе продолжают за счет математического и статистического анализа у лиц, получавших стандартное лечение, сохранялось увеличение количества макрофагов в области раны с образованием гранул в процессе. В результате размножение макрофагов вокруг некротической гранулы характеризуется тем, что макрофаги составляют основной морфологический субстрат патологического очага, что приводит к обострению процесса фагоцитоза в этой зоне и уменьшению промежуточных тканевых компонентов. Именно при морфометрических исследованиях очагов трофических язв площадь, занимаемая макрофагами, составила 53,2±0,05, что показало увеличение в 3 раза по сравнению с контрольной группой. Эта цифра послужила бы основой для рекомендации о необходимости специализации показаний путем уменьшения чрезмерно увеличенных типов клеток, что

позволяет управлять процессом этиотропного или патогенетического отторжения, целью которого является уменьшение количества макрофагов при клинической диагностике и лечении трофических язв. Было обнаружено, что площадь, занимаемая лимфоцитами, уменьшилась на $2,2 \pm 0,05$, что соответствует мизерному показателю, который составлял 25%. Уменьшение количества лимфоцитов в очаге воспаления указывает на длительный период репаративной регенерации, продолжающийся при вторичных бактериальных инфекциях на коже пациентов, получающих стандартное лечение в 1-й группе. Уменьшение в 2 раза площади, занимаемая фибробластами, было выявлено при морфометрических исследованиях, что свидетельствует о продолжении процесса вторичной альтерации и некробиоза в трофических язвах, и еще раз доказывает, что именно из-за фиброзных структур вокруг патологических очагов уменьшилось количество и качество коллагеновых волокон. Это, в свою очередь, доказывает, что трофические язвы приводят к образованию глубоких дефектов без дальнейшего заживления. Уменьшение площади васкуляризации в 3 раза по сравнению с нормальными значениями, $11,7 \pm 0,06$ (в норме $36,2 \pm 0,03$), означает, что питание в этой области резко нарушено и эффективность стандартного метода лечения очень низкая (рис. 5.3.1).

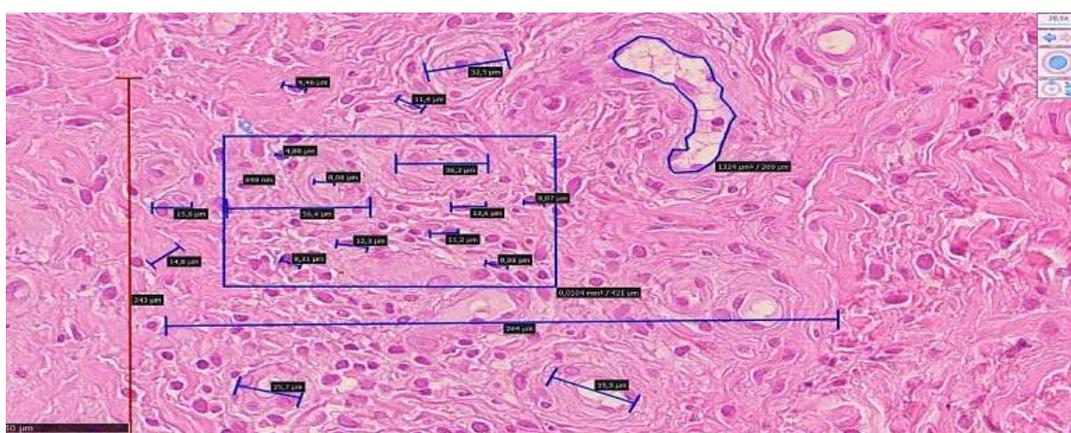


Рисунок 7.4.1. Соотношение инфильтрированных клеток в патологическом очаге к единице и занимаемому пространству на микроскопическом изображении ткани кожи. Краска Г-Э. Программа морфометрии NDP.view 2.

Во II-й группе при стандартном лечении трофических язв и изменений кожи пациентов, получавших плазму, обогащенную тромбоцитами, были обнаружены следующие показатели. Площадь, занимаемая макрофагами по морфометрическим показателям во II-й группе по сравнению с I-й группой, составила $29,2 \pm 0,05$. Было обнаружено, что количество макрофагов на поверхности поврежденной ткани уменьшилось, а занимаемая поверхность очагов плазмоцитарной инфильтрации и лимфоцитов составила $16,2 \pm 0,03$ (1,36). Эти изменения указывают на увеличение репаративной регенерации в процессе по сравнению с I- группой, уменьшение вторичных изменений в пораженной области, относительное затухание процесса и уменьшение избытка макрофагальных клеток в воспаленной области. Наличие $11,7 \pm 0,05$ (1,01) по сравнению с I-й группой фибробластов в поврежденной области означает, что во внеклеточном матриксе волокнистые структуры приблизились к средним значениям, а при дефектах, происходящих в той же области, очаги кратера были относительно уменьшены, а косметические дефекты были относительно уменьшены. Степень реваскуляризации в демаркационном пограничном мешке в поврежденном мешке составляет $19,7 \pm 0,02$ (1,84), зная, что пролиферативная активность эндотелиоцитов увеличивается, и клинически морфологически характеризуется макроскопическим темно-розовым красноватым появлением в демаркационной пограничной области. Если бы очаги цианотического уплотнения в этой области имели голубоватый оттенок, то к развитию могло бы привести венозное переполнение и цианотическое уплотнение кожи. Именно на участках с длительно сохраняющейся трофической язвой мягкие ткани и грубые рубцы, которые подвергаются организации, вызывают компрессионное венозное наполнение в мелких венозных кровеносных сосудах, что, как наблюдается, продолжается с цианотическим уплотнением кожи и эволюционным обнаружением многочисленных очагов десквамации в эпителиальных покровах. Устранение этих изменений именно во II-й группе объясняется микроскопически уменьшением площади, занимаемой

макрофагами. Площадь, занимаемая коллагеновыми волокнами, изменилась с $19,7 \pm 0,05$ до $23,2 \pm 0,09$ во 2-й группе по сравнению с I-й группой, что свидетельствует об увеличении фиброзных структур в очаге трофических ран и развитии рубцовой зоны вокруг демаркационного очага трофической раны в этой области, возвышающиеся над поверхностью здоровой кожи (табл 7.4.2.).

Таблица 7.4.2.

Морфометрические показатели на коже пациентов, получавших стандартное лечение + prp (плазму, обогащенную тромбоцитами таблица

№	Группы	Макрофаги	Лимфоциты SALT-структуры	Площадь фибробластов	Площадь васкуляризации	Площадь коллагеновых волокон
	Контрольная группа	17,8±0,5	11,9±0,3	11,9±0,5	36,2±0,03	21,9±1,05
1	Стандартное лечение	53,2±0,05	9,7±0,07	5,7±0,05	11,7±0,06	19,7±0,05
2	Стандартное лечение +PRP (плазма обогащенная тромбоцитами)	29,2±0,05	16,2±0,03	11,7±0,05	19,7±0,02	23,2±0,09

Примечание: Степень надежности по отношению к показателям контрольной группы *- $P \leq 0,01$; **- $P \leq 0,001$

Тогда как, в III – группе больных с ЯПК, получавшие инновационный метод терапии с активизированной кремнистой водой ASW-фатидерм – 150 мл и ультразвукового массажа с 5% кремом дисдерм на фоне PRP – терапии

с обогащенной тромбоцитарной плазмой морфометрические показатели характеризовались тем, что количество макрофагов в волокнах язвы резко изменилось на $19,2 \pm 0,01$ (в норме $17,8 \pm 0,5$). Эти изменения указывают на уменьшение количества макрофагов в результате резкого уменьшения метапластически измененных макрофагов в каждом крупном масштабе, увеличение фибробластов на их месте указывает на повышенный синтез волокнистых структур $26,7 \pm 1,05$ (норма $11,9 \pm 0,5$) и восстановление волокнистых структур кожи. Макроскопическая демаркация в этой области характеризуется тем фактом, что в области здоровой ткани и заживающей раны продолжается появление плоской поверхности розового цвета (в I-й и II-й группах демонстрировалась картина, напоминающая край кратера). Увеличение относительно нормативных показателей Т-лимфоцитов, расположенных на границе шиповидного слоя кожи $14,7 \pm 0,03$ (в норме $11,9 \pm 0,3$), указывает на то, что SALT- структуры (Scin-Associated Lymphoid Tissue) повторно прогрессируют в поврежденных областях. Это, в свою очередь, дает положительную оценку эффективному восстановлению репаративной регенерации в гистиоархитектонике кожи и правильному подбору этиотропных PRP и крема ДИСДЕРМ, используемых при лечении 3-й группы.

Сформированная и занятая поверхность коллагеновых волокон составляет $22,7 \pm 0,07$, что означает, что фибробласты развились должным образом пропорционально активным очагам пролиферации. В результате, увеличение коллагенового волокна в очагах некроза при трофических язвах объясняется тем фактом, что слой дермы заново прогрессирует и приводит к увеличению и сохранению скорости межклеточной жидкости. Именно в 3-й группе доказано, что кремниевая мазь удерживает влагу на поверхности кожи и приближает вышеуказанные показатели к диапазону нормальных показателей (табл 7.4.3.).

Объединив полученные результаты, было сформировано изображение в виде диаграммы и пересекающейся морфометрической формы при

размещении величин в одной плоскости в программе Excel (смотрите диаграмму № 4). На этом изображении в морфометрической форме трофических язв, встречающихся в разных нозологических единицах, наиболее четко были описаны друг другу показатели контрольной группы и в III-й группе.

Таблица 7.4.3.

Морфологические изменения в ранах получивших стандартное лечение + PRP (плазма, обогащенная тромбоцитами) + увлажнение кремниевой жидкостью и нанесением крема дисдерм (Р

№	Группы	Макрофаги	Лимфоциты SALT-структуры	Площадь фибробластов	Площадь васкуляризации	Площадь коллагеновых волокон
	Контрольная группа	17,8±0,5	11,9±0,3	11,9±0,5	36,2±0,03	21,9±1,05
3	Стандартное лечение +PRP (плазма обогащенная тромбоцитами) + увлажнение кремниевой жидкостью и нанесение крема	19,2±0,01	14,7±0,03	16,7±0,07	26,7±1,05	22,7±0,07

Дисдерм вокруг язвы					
------------------------	--	--	--	--	--

Примечание: Степень надежности по отношению к показателям контрольной группы *- $P \leq 0,01$; **- $P \leq 0,001$

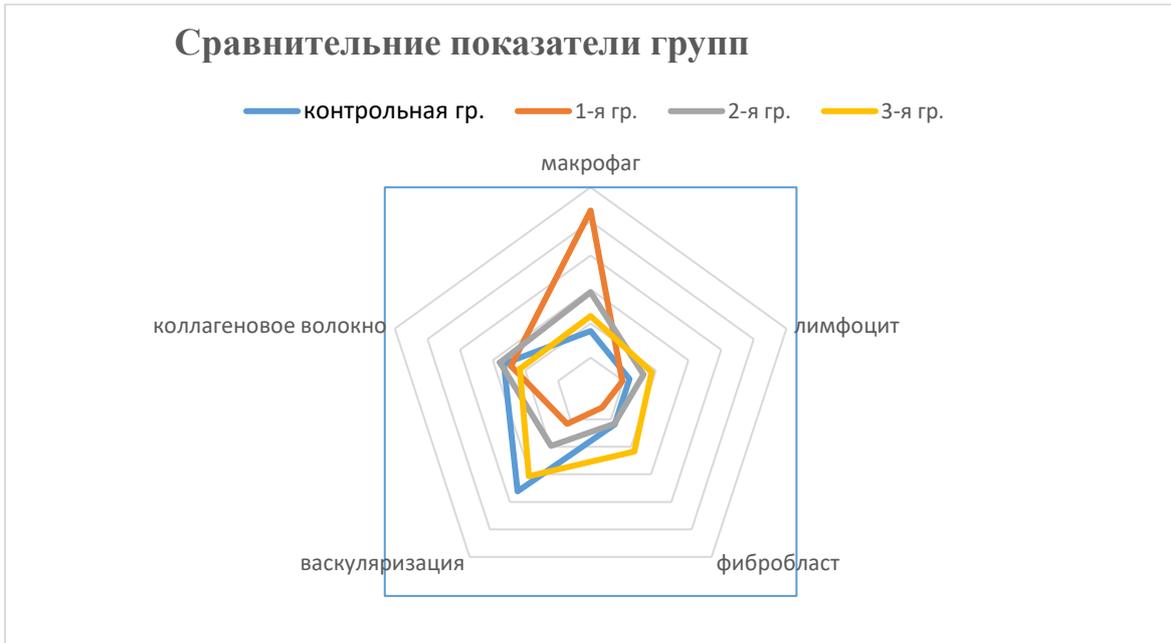


Рисунок 7.4.2. Параметрическая форма, образующая на диаграмме морфометрические показатели на плоскости с одной поверхностью.

Следовательно, на основе этих морфометрических диаграмм и изображений создается основа для выработки алгоритма, который позволяет нам устанавливать практические рекомендации, необходимые для предварительной проспективной оценки и лечения, в зависимости от морфометрических показателей в той же изученной исследовательской работе, и тактики лечения, определяющей, какой тип клеточных компонентов является ниже или выше нормативных показателей.

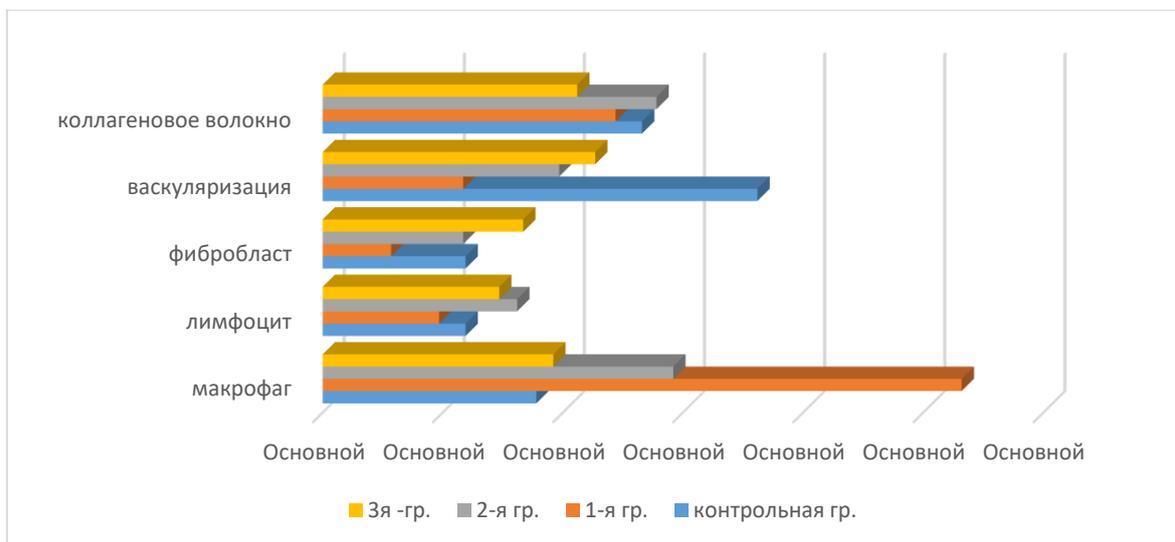


Рисунок 7.4.3. Относительные показатели клеточной и мезенхимальной ткани при трофических язвах.

Таблица 7.4.4.

Изменения в группах морфометрических показателей при трофических язвах

	Группы	Макрофаги	Лимфоциты SALT-структуры	Площадь фибробластов	Площадь васкуляризации	Площадь коллагеновых волокон
1	Контрольная группа	17,8±0,5	11,9±0,3	11,9±0,5	36,2±0,03	21,9±1,05
2	Стандартное лечение	53,2±0,05 (2,98)	9,7±0,07 (0,81)	5,7±0,05 (0,48)	11,7±0,06 (0,32)	19,7±0,05 (0,9)
3	Стандартное лечение + PRP (плазма обогащенная)	29,2±0,05 (1,64)	16,2±0,03 (1,36)	11,7±0,05 (1,01)	19,7±0,02 (1,84)	23,2±0,09 (1,06)

	тромбоцитам и)					
4	Стандартное лечение +PRP (плазма обогащенная тромбоцитам и) + увлажнение кремнивой жидкостью и нанесение крема Дисдерм вокруг язвы	22,2±0,0 1 (1,24)	18,7±0,03 (1,57)	21,7±0,07 (1,82)	30,7±1,05 (0,85)	6,7±0,07 (0,30)

Степень надежности по отношению к показателям контрольной группы *-
 $P \leq 0,01$; ** - $P \leq 0,001$

Таким образом, инновационный способ лечения с применением PRP терапии с использованием активизированных кремнистых растворов и кремнистого крема способствует снижению степени колонизации патогенной микрофлоры и уменьшения лимфоцитарного инфильтрата, приводит к усилению противовоспалительного эффекта с обеспечением регенерации кожи. На наш взгляд, такое явление можно объяснить содержащиеся в PRP процедуре «факторов роста» - обогащённых тромбоцитов, что провоцируют интенсивное восстановление пораженного участка ткани, а также составляющим компонентами в активизированной кремниевой воде и

кремнистого крема лечебных минералов, что способствует повышению эффективности действующего препарата и стимулирует регенерации клеток.

Анализируя полученные результаты можно сказать, что инновационный способ лечения способствует повышению терапевтической эффективности, характеризующиеся значительным улучшением динамики рассасывания патологического процесса на коже, уменьшением степени колонизации в очаге поражения и значительной регенерации.



Фото 5.3.1. Больная М. 48 лет Диагноз: Хроническая язвенная пиодермия До лечения (а)



Фото 5.3.2. Та же больная М. 48 л. После лечения на 15 –й день наблюдения. (б)



Фото 5.3.3. Больной А. 37 л. Диагноз: Трофическая язва. До лечения



Фото 5.3.4. тот же б. После 2 месяца.



Фото 5.3.5. Больной Д. 55 л. Дигноз: Трофическая язва

А) До лечения

Б) тот же б. После 1 месяца.



Фото 5.3.5. Больная Н. 53 л. Язвенно – некротический васкулит

А) До лечения



Фото 5.3.6. Б) после 40 дней лечения



Фото 5.3.7. Болной А. 16 лет. Диагноз: Язвенно – некротический васкулит

А) до лечения

Б) после 1 месяца



Фото 5.3.8. Больной Э Е. 30 лет. Диагноз: Хроническая язвенная пиодермия

А) до лечения

Б) После лечения через 15 дней



Фото. Больной А. 71г. Трофическая язва до (а) и после второй процедуры инновационной наружной терапии (б)

Отдаленные результаты клинического течения заболеваемости в течение 1 года у обследованных больных показало, положительную динамику рассасывания кожно-патологического процесса у больных III- группы, получавшие комплексную терапию с применением PRP терапию с тромбоцитарной массой с наружным использованием активизированной кремнистой воды и физиотерапевтической процедуры УЗМ с кремом дисдерм.

Список литературы:

1. Алейник Д.Я., Зорин В.Л., Еремин И.И. и др. Использование клеточных технологий для восстановления повреждений кожи при ожоговой травме // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4.
2. Альбанова В.И. и др. Медицинские клеточные технологии в терапии больных рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом. Метод внутрикожного введения фибробластов // Вестник дерматологии и венерологии. - 2015. - N 3. - С. 46-53.
3. Альбицкий, А.В. «Лечение трофических язв венозной этиологии с точки зрения доказательной медицины» / А.В. Альбицкий, В.Ю. Богачев, Е.В. Калинина // Ангиол. и сосуд. хирургия. – 2006. – Т. 12, №2. С. 137-144.
4. Андреев Д. Ю., Ястребов П. А., Макарова Л.Н. «Этиология, патогенез и клинические особенности «гидростатических» язв нижних конечностей» // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 2015. – Т. 174, № 3. – Ч. I. – С. 99–102.
5. Ахмеров Р.Р. Плазмолифтинг (Plasmolifting) – лечение возрастной атрофии кожи аутоплазмой, богатой тромбоцитами / Р.Р. Ахмеров, Р.Ф. Зарудий, О.И. Бочкова, И.Н. Рычкова // Эстетическая медицина. 2011. Т. X,
6. Баранов Е.В., Буравский А.В., Квачева З.Б. и др. Перспективы применения дермальных фибробластов и клеточных композиций для восстановления целостности кожных покровов в эксперименте // Новости медико-биологических наук: 2017,- том 15, №2. - С.56-64.
7. Барановский Ю.Г., Ильченко Ф.Н., Шаповалова Е.Ю. Применение дермальных фибробластов для ускорения регенерации хронических раневых дефектов кожи // Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. 2019. №5 (41).
8. Биниенко М.А., Коцлова А.А., Давыденко В.В., Власов Т.Д. «Использование дермального эквивалента для ускорения заживления трофических язв при синдроме диабетической стопы» // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 2016. – Т. 175, № 5. – С. 63–68.

9. Богачев В.Ю. «Флебология сегодня и завтра. Обзор материалов 15-го всемирного конгресса флебологов (IUP)» // Ангиол. и сосуд. хирургия. – 2007. – Т. 13, №1. – С. 96-99.
10. Богдан В.Г., Толстов Д.А., Зафранская М.М. «Оценка стимулирующего влияния обогащенной тромбоцитами плазмы в экспериментальной модели культур фибробластов пациентов с трофическими язвами венозной этиологии» // Медицинские новости, – 2014, №9, – С.87 – 89.
11. Богданец Л.И. Стратегия и тактика лечения трофических язв венозного генеза. // Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук. - М.: - 2008.
12. Борисов Е.Н., Краснова Т.Н., Самоходская Л.М., Иваницкий Л.В., Никифорова Н.В., Мухин Н.А. Прогностическое значение аллельных вариаций генов, влияющих на систему гомеостаза, в развитии антифосфолипидного синдрома и поражения почек у больных системной красной волчанкой. Тер арх 2014; 6:57-62.
13. Бородин Ю.И. Лимфология как интегративная медико-биологическая наука // Вестник лимфологии,- 2011.-№2.-с.4-7.
14. Васильев И.М., Муранова А.В., Смирнова Е.С., Богданец Л.И. и др. «Аспекты патогенеза венозных трофических язв и пути коррекции иммунных нарушений» // Клиническая медицина. – 2016. – Т. 94, № 11. – С. 820–826
15. Васютков В.Я., Проценка Н.В. Трофические язвы голени и стопы. – М.: Медицина,1993 – с160
16. Винник Ю.С. и др. «Комплексная озонотерапия в лечении гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей» // Актуальные вопросы современной хирургии. – Астрахань, 2006. – С. 193–194.
17. Галстян И. А., Надежина Н. М., Левадная М. Г., Аксененко А. В. «Язва-рак кожи в исходе местного лучевого поражения» // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2015. – Т. 60, № 1. – С. 26–32.

18. Галстян И.А., Надежина Н.М., Левадная М.Г., Аксененко А.В. «Язва-рак кожи в исходе местного лучевого поражения» // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2015. – Т. 60, № 1. – С. 26–32.
19. Глухов А.А., Алексеева Н. Т., Остроушко А. П., Бугримов Д. Ю. и др. «Морфофункциональный анализ тканевой реакции при использовании обогащенной тромбоцитами плазмы крови» // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 924–926.
20. Гриценко В.В., Орловский П.И., А.Ж.Мельцова А.Ж, Гавриленков В.И., Давыденко В.В. // Современные аспекты диагностики и лечения трофических язв венозной этиологии // Пособие для врачей общей практики // Санкт-Петербург 2007 ст 5 -8.
21. Гуликян Г.Н., Карапетян Г.Э., Пахомова Р.А. лечение трофических язв методом аутотрансплантации жировой ткани в эксперименте // Современные проблемы науки и образования – 2015. – № 6. ;
22. Дубровщик О.И., Довнар И.С., Красницкая А.С., Равинский М.А., Филипович А.В., Хильмончик И.В. «Местное лечение трофических язв нижних конечностей с использованием иммобилизированной формы хлоргексидина биглюконата» В сборнике: Актуальные проблемы медицины. материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции. 2019. С. 220-222.
23. Железникова Г. Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций. Цитокины и воспаление. 2009; 8(1): 10-7.
24. Иваницкий Л.В., Краснова Т.Н., Самоходская Л.М., Совершаева Е.П., Борисов Е.Н., Никифорова Н.В., Мухин Н.А. Влияние полиморфизма генов воспалительных цитокинов на активность и особенности клинической картины системной красной волчанки. Клини фармакол и тер 2013; 5:24-9.
25. Иванов Е.В. «Варикозная экзема: этиология, патогенез и диагностика» //Ангиол. и сосуд. хирургия. – 2005. – Т. 11, №1. – С. 75-78.
26. Казаков Ю.И., Лукин И.Б., Казаков А.Ю., Ефимов С.Ю. и др. «Выбор метода реконструкции сосудов при критической ишемии нижних конечностей» // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – Т. 21, № 2. – С. 152–158.

27. Каримов Х.Я., Саидов А.Б., Бобоев К.Т., Ассесорова Ю.Ю. и др. Фундаментальные и прикладные аспекты молекулярной генетики в медицине. / Научное издание. – Ташкент: ИПТД «Узбекистан», 2016 – 352 с.
28. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб.: «Издательство Фолиант», 2008; 552 с. Ketlinskiy S. A., Sumbirtsev A. S.
29. Кириенко А.И. и др. «Трофические язвы венозной этиологии и их связь с иммунным статусом» // Ангиол. и сосуд. хирургия. – 2007. – Т. 13, №1. – С. 76-86.
30. Кияшко В. А. «Трофические язвы нижних конечностей» // Русский медицинский журнал. – 2003. – № 4. – С. 221.
31. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Любарский М.С. Лимфология // Новосибирск, издат дом « Манускрипт» -2012.-1204 с.
32. Корейба К.А., Минабутдинов А.Р., Корейба Е.А. «Синдром диабетической стопы: комплексное лечение трофических нейропатических язв» // Эндокринология: новости, мнения, обучение. – 2015. – Т. 12, № 3. – С. 100–106.
33. Косенков А.Н. и др. «Патогенез и диагностика хронической венозной недостаточности нижних конечностей с трофическими нарушениями» // Хирургия. – 2005. – №5. С. 60-64.
34. Круглова Л.С., Панин А.Н., Стрелкович Т.Н. «Трофическме язвы венозного генеза» // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2014. - №1. – С. 21-25.
35. Кубанов А.А., Альбанова В.И., Чикин В.В., Епишев Р.В. Современные методы терапии врожденного буллезного эпидермолиза. Вестник дерматологии и венерологии 2014; 6: 47-56.
36. Кудыкин М.Н. «Современное состояние проблемы хронических заболеваний вен нижних конечностей» // Хирургия. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2017. №1. С. 52-56.
37. Кунгурцев В.В., Чиж В.Р., Гольдина И.М. «Роль эндоскопической диссекции перфорантных вен у больных с хронической венозной недостаточностью в

стадии трофических расстройств» //Ангиол. и сосуд. хир. 2000. – Т. 6, № 4. – С.42-47.

38. Лазаренко В.А., Андрюхина Е.Г. «Клеточная трансплантация в терапии венозных трофических язв» // Материалы X международного хирургического конгресса. -Ростов н/Д, 2005. С.298
39. Лосев Р.З. и др. «Оценка состояния микроциркуляции у пожилых больных с трофическими венозными язвами» // Ангиол. И сосуд. хирургия. – 2005. – Т. 11, №1. – С. 65-72.
40. Mavlyanova Sh. Z., Obidov S.Z. "Cell technology for experimental ulcerative lesions" International Journal of Clinical & Experimental Dermatology 2021 Volume 6| Issue 1| 01-04 ISSN: 2476 - 2415
41. Мавлянова Н.Н., Бобоев К.Т. Анализ частоты выявляемости аллелей и гена Pval 105 гена FGB у беременных. Журнал актуальные проблемы дерматовенерологии и эстетической медицины.
42. Мавлянова Н.Н., Нажмутдинова Д.К., Бобоев К.Т. Анализ ассоциации полиморфизма гена «сосудистой системы» в механизме развития фетоплацентарной недостаточности. // Медицинский журнал Узбекистана – 2017 - № 3. – с. 24-27. (14.00.00; №8)
43. Мавлянова Ш.З., Исмагилов А.И., Мирзакулова Ш.Н., Детоксицирующее лечебное действие природного минерала глауконит у больных атопическим дерматитом.// Журнал <<ТЕРАПЕВТ>> № 4 (191) 2023. ISSN 2075-0277. Ст. 24-32
44. Мавлянова Ш.З., Кодирова М.А. К результатам молекулярно-генетических исследований ассоциации полиморфизма гена (rs1800790) G-455A гена FGB у больных с акантолитической пузырчаткой. // Дерматовенерология и эстетическая медицина. – 2024. - №1. (61). - С. 107-111
45. Мавлянова Ш.З., Обидов С.З., Современные представления о патогенезе и клиническом течении трофических язв // Дерматовенерология и эстетическая медицина. – 2020. - №1-2,(45-46). - С. 33-38.

46. Никулин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса / Б.А. Никулин. -М.: «ГЭОТАР Медиа», 2008. - 375с
47. Обидов С.З. “Клинико – морфологическая характеристика трофических язв и оптимизация методов терапии” // Диссертационная работа / Ташкент 2023.
48. Обидов С.З., Мавлянова Ш.З. Инновационный способ лечения трофической язвы // Новости дерматовенерологии и репродуктивного здоровья Центральноазиатский научно-практический журнал. - 2022. - №1-2. - С. 54 – 56.
49. Оболенский В. Н. «Трофические язвы нижних конечностей: обзор проблемы» // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 17, № 25. – С. 1647.
50. Олисова О.Ю., Авагян Д.В. «Терапия рубцов постакне при сочетанном применении абляционного фототермолиза СО2-лазером и аутологичной обогащённой тромбоцитами плазмы» // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2018; 21 (1), – С. 48 – 52.
51. П.Р. Мухамадиева, У.Р. Худойназаров, З.Ш. Исхакова. «Лечение трофических язв венозной этиологии у геронтологических больных» // Биология ва тиббиёт муаммолари, 2014, №1 (77) – С. 51 – 53.
52. Паюшина, О.В. Мезенхимные стромальные клетки из эмбриональных и дефинитивных источников: фенотипические и функциональные особенности : автореферат дис. ... доктора биологических наук : 03.03.04 / [Место защиты: Моск. гос. ун-т им. М.В. Ломоносова]. - Москва, 2015. - 38 с.
53. Петручук Е.М., Шалунова Н.В., Олефир Ю.В. и др. Культуры клеток в заместительной терапии // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2017. №4 (64).
54. Полякова А.С., Бакрадзе М.Д., Таточенко В.К., Гадлия Д.Д. Диагностическая ценность определения уровня прокальцитонина в практике инфекциониста. Вопросы современной педиатрии. 2017; 16 (4): 334-341. doi: 10.15690/vsp.v16i4.1781)
55. Потапнёв М.П., Кривенко С.И., Богдан В.Г., Карпенко Ф.Н., Михновская А.Б. «Биологические эффекты и ранозаживляющее действие плазмы, обогащенной

растворимыми факторами тромбоцитов, в условиях экспериментальной гипергликемии» // Медицинский журнал 2018, № 2, – С. 107 – 111.

56. Потекаев Н.Н., Фриго Н.В., Петерсен Е.В. Искусственная кожа: виды, области применения. Клиническая дерматология и венерология. 2017;16(6):7-15.
57. Просяникова Н. В. «Аутологичная, богатая тромбоцитами плазма в лечении язвенных поражений кожи нижних конечностей» // Диссертационная работа / москва 2014.
58. Пушкарев В.П., Лекомцев Б.А., Гайнутдинов В.О. «Возможности УЗИ в диагностике патологии центральной и периферической лимфатической системы». Пермский медицинский журнал. Пермь 2013; Том 30:4 :74-78.
59. Р. Д. Суннатов, Б. К. Келдиёров, С. З. Таджиев совершенствование способа местного лечения трофических язв (115-119) Doktor axborotnomasi 2022, №3 (106)
60. Савельев В.С., Гологорский В.А., Кириенко А.И. и др. Флебология. Руководство для врачей. под ред. Савельева В. С. / М., Медицина. – 2001. – 664 с
61. Самойлова К. А. Механизмы противовоспалительного, иммуномодулирующего, ранозаживляющего и нормализующего обмен веществ действия света прибора «Биоптрон». Вестник СурГУ. Медицина. – № 4, 2010. – С. 119–126.
62. Самцов А.В., Хайрутдинов В.Р., Соколовский Е.В., Кохан М.М., Белоусова И.Э., Олисова О.Ю., Грабовская О.В., Бакулев А.Л., Карамова А.Э. К вопросу о классификации васкулитов кожи. Вестник дерматологии и венерологии. 2021;97(4):00–00. doi: <https://doi.org/10.25208/vdv1258>
63. Седов В.М., Андреев Д.Ю., Смирнова Т.Д. «Культивируемые фибробласты плода человека в комплексном лечении язв нижних конечностей» // Клеточные культуры /Информ.бюл. -2006.-№21.- С.44-54.
64. Серова Г. А., Паунова С. С., Смирнов И. Е., Кучеренко А. Г. Интерлейкины-6 и 10 в моче у детей с инфекцией мочевой системы. Педиатрическая фармакология. 2006; 3(4): 124-5.

65. Синявский М.М. Трофические язвы нижних конечностей / М.М. Синявский. Минск: Беларусь, 1973. - 232 с.
66. Сметанина М.А, Шадрин А.С, Золотухин И.А, Филипенко М.Л. Генетические основы хронических заболеваний вен нижних конечностей: обзор современных представлений. Флебология. 2016 ; V. (10) :199-213
67. Способ лечения ожогов степени за посредством нанесения присыпки глауконита.// RU2760838C1
68. Старостина Е.Е., Соколова М.В., Самоходская Л.М., Розина Т.П., Краснова Т.Н., Яровая Е.Б., Мухин Н.А. Значение аллельных вариантов генов системы свертывания крови и тромбоцитарных рецепторов в развитии криоглобулинемического васкулита у больных хроническим гепатитом С. Рос журн гастроэнт гепатол колопроктол 2016; 26(5):28-35
69. Стойко Ю.М., Ермаков Н.А. «Клинические и фармакоэкономические аспекты хронической венозной недостаточности нижних конечностей» // Ангиол. и сосуд. хирургия. – 2004. – Т. 10, №4. – С. 63-67.
70. Стрелкович Т.И. «Комбинированный метод консервативного лечения трофических язв венозного генеза» / Медицинский алфавит. 2020. – № 6. – С. 61-63
71. Суковатых В.С. и др. «Механизмы развития декомпенсированных форм варикозной болезни» // Вестн. хир. – 1999. – №1. – С. 36-40.
72. Токмакова А. Ю., Страхова Г.Ю., Галстян Г. Р. «Современная концепция ведения больных с хроническими ранами и сахарным диабетом // Сахарный диабет. – 2005. – № 1. – С. 42– 48.
73. Третьяков А.А., Неверов А.Н., Петров С.В., Гатиатуллин И.З. Комплексное лечение трофических язв нижних конечностей и длительно незаживающих ран (обзор литературы) // Оренбургский медицинский вестник. 2016. – Т. IV. – № 4 (16). – С. 62-68.
74. Туганбеков Т.У., Аскарров М.Б., Ашимов Н.Т., Сайпиева Д.Т. Применение клеточных технологий в лечении трофических язв // Клиническая Медицина Казахстана. 2013. – № 4 (30). – С. 14-20

75. Туркин П.Ю., Родионов С.В., Сомов Н.О., Миргатия И.О. Венозные трофические язвы: современное состояние вопроса // Лечебное дело. 2018. №1.
76. Тухтаев Ф.М., Султанов Д.Д., Шаймонов А.Х. и др. Современное состояние проблемы ведения больных с посттромботической болезнью нижних конечностей (обзор литературы) // Вестник российских университетов. Математика. 2017. – №2.
77. Удовиченко, О.В. Эффективность иммобилизирующих разгрузочных повязок total contact cast: обзор зарубежных рандомизированных клинических исследований и собственные данные / О.В. Удовиченко, Е.В. Бублик, Н.В. Максимова и др. // Сахарный диабет. - 2010. - № 2. - С. 50-55.
78. Уразметова М.Д., Хаджибаев А.М., Миркамалова Л.И. и др. Показатели крови у крыс с ожоговой болезнью при трансплантации культивированных аллофибробластов // Журнал теоретической и клинической медицины, -2006. - №2.- с. 34-37.
79. Храмин В.Н., Демидова И.Ю., Игнатова О.Ю. Оценка эффективности различных режимов пероральной терапии альфа–липоевой кислотой болевой формы диабетической периферической полинейропатии. // Сахарный диабет. – 2010 – № 2. – С. 3–7.
80. Чепеленко, Г.В. «Роль лимфатической системы в потенцировании клинических стадий хронической венозной недостаточности нижних конечностей» // Ангиол. и сосуд. хирургия. – 2004. – Т. 10, №2. – С. 124-127.
81. Чур Н. Н., Гришин И. Н., Чур С. Н. «Трофические язвы нижних конечностей» //Мн.: Асобны, 2008. – С. 148.
82. Швальб П.Г., Швальб А.П., Грязнов С.В. «Лобулярная версия патогенеза трофических язв сосудистого происхождения» // Ангиология и сосудистая хирургия. 2013. – Т. 19, – №3. – С. 93-98
83. Шевелев И.И., Черкасов И.И. «Исследование эффективности озонотерапии при лечении трофических язв 2016» Биорадикалы и Антиоксиданты 2016. – Том 3, №3. – С. 191-194 БУЗ ВО ВОКБ №1 г. Воронеж, Россия.

84. Шевченко Ю.Л., Стойко Ю.М., Гудымович В.Г., Иванов А.К. Комплексный подход в лечении обширных трофических язв голени в многопрофильном стационаре. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2014;7(3):221-7
85. Штутин А.А., Попов С.В., Джерелей О.Б., Михайличенко В.Ю. «Применение обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении посттравматической нейропатии» // таврический медико-биологический вестник, 2016. – том 19, – № 4, – С. 120 – 125.
86. A. Arya, S. Rana, S. Gupta, L. Singh. Endothelial Dysfunction: An Evolving Target in Diabetic Nephropathy. Molecular Enzymology and Drug Targets. 2016. Vol. 2 No. 1.
87. Abugaliyev K., Vyacheslav O., Gaziza D. et al. Transplantation of Cultivated Fibroblasts on a Backing of Xenogenic Tissue in the Treatment of Wounds // Cent Asian J Glob Health. 2014 Dec 12;3(Suppl):143. doi: 10.5195/cajgh.2014.143. eCollection 2014. PMID: 29805880.
88. Ambrózy E., Waczulíková I., Willfort A., Böhler K. et al.«Healing process of venous ulcers: the role of microcirculation» //Int. Wound J. – 2013. – Vol. 10, № 1. – P. 57–64.
89. Anilkumar K. Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach / K. Anilkumar, K. Geetha, A. Umasudhakar, T. Ramakrishnan, R. Vijayalakshmi, E. Pameela // J. Indian Soc. Periodontol. 2009. N 13. P. 50-54.
90. Aragona S.E., Grassi F.R., Nardi G., Lotti J., Mereghetti G., Canavesi E., Equizi E., Puccio A.M., Lotti T. «Photobiomodulation with polarized light in the treatment of cutaneous and mucosal ulcerative lesions» J Biol Regul Homeost Agents. 2017 Apr-Jun; 31 (2 Suppl. 2): 213–218.
91. Armin F., Dabiri S., Derakhshani A. et al. Application and Assessment of Allogeneic Fibroblasts for Cell Therapy // Iran J. Pathol. 2018 Fall;13(4):454-460. Epub 2018 Sep 25. PMID:30774685.
92. Aroca S. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent

multiple gingival recessions: A 6-month study / T. Keglevich, B. Barbieri, I. Gera, D. Etienne // *J. Periodontol.* 2009. N 80. P. 244-252.

93. *Bains R.* Management of pulpal floor perforation and grade II Furcation involvement using mineral trioxide aggregate and platelet rich fibrin: A clinical report / R. Bains, K. Loomba, R. Verma, A. Nasir // *Contemp. Clin. Dent.* 2012. N 3. P. 223-227.
94. Bajouri A., Orouji Z., Taghiabadi E. et al. Long-Term Follow-up of Autologous Fibroblast Transplantation for Facial Contour Deformities, A Non-Randomized Phase IIa Clinical Trial. *Cell J.* 2020 Apr;22(1):75-84. doi: 10.22074/cellj.2020.6340. Epub 2019 Sep 8. PMID: 31606970.
95. *Bambal D.* A comparative evaluation of the healing ability of bilateral periapical lesions treated with and without the use of platelet-rich fibrin. *Today's FDA* / D. Bambal, N.U. Manwar, M. Chandak, K. Rudagi. 2012. N 24. P. 54-57.
96. Bergqvist D., Lindholm C., Nelzen O. Chronic leg ulcers: The impact of venous disease. // *Journal of Vascular Surgery.* 1999. - Vol. 29(4). - P. 752-755.
97. Boss W.K., Usal H., Chernoff G. et al. Autologous cultured fibroblasts as cellular therapy in plastic surgery // *Clin Plast Surg.* 2000 Oct;27(4):613-26. Review. PMID: 11039893.
98. Broszczak DA, Sydes ER, Wallace D, Parker TJ. Molecular aspects of wound healing and the rise of venous leg ulceration: omics approaches to enhance knowledge and aid diagnostic discovery. *The Clinical Biochemist Reviews* 2017 Feb;38(1):35-55
99. Brown, R. T., et al. (2019). Immune Profiling in Chronic Wound Healing: Role of CD4+ T Cells. *Journal of Investigative Dermatology*, 139(6), 1260–1270.
100. Budnick I., Hamburg-Shields E., Chen D. et al. Defining the identity of mouse embryonic dermal fibroblasts // *Genesis.* 2016 Aug;54(8):415-30. doi: 10.1002/dvg.22952. Epub 2016 Jun 24. PMID:27265328.
101. Chandan, K., et al. (2020). Pathophysiology of Chronic Ulcers: A Review of Immunological Markers. *Journal of Dermatological Research*, 45(3), 123–132.

102. Cheatle, T.R. Skin damage in chronic venous insufficiency: does an oxygen diffusion barrier really exist? / T.R. Cheatle, G.M. McMullin, J. Farrah // J.R. Soc. Med. – 1990. – T. 83, №8. – P. 493- 494
103. Chi N., Wang R. Electrospun protein-CNT composite fibers and the application in fibroblast stimulation // Biochem Biophys Res Commun. 2018 Sep 26;504(1):211-217. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.157. Epub 2018 Aug 29. PMID: 30172370.
104. Christine M.P., Reichelt J., Bauer J.W., et al. Current and future perspectives of stem cell therapy in dermatology // AnnDermatol. 2017; 29 (6): 667-87. DOI: 10.5021/ad.2017.29.6.667.
105. Conner-Kerr T., Malpass G., Steele A., Howlett A. Effects of 35 kHz, low-frequency ultrasound application in vitro on human fibroblast morphology and migration patterns // Ostomy Wound Manage. 2015 Mar;61(3):34-41. PMID: 25751849.
106. Costa-Almeida R.1, Soares R., Granja P.L. Fibroblasts as maestros orchestrating tissue regeneration // J. Tissue Eng Regen Med. 2018 Jan;12(1):240-251. doi: 10.1002/term.2405. Epub 2017 May 23. Review. PMID: 28109062.
107. Cullum N., Nelson E.A., Fletcher A.W., Sheldon T.A. Compression for venous leg ulcers. Cochrane Database of Systematic Reviews 2001, Issue 2. Art. No.: CD000265. DOI: 10.1002/14651858.CD000265.
108. Dissemond J. et al., ABCDE rule in the diagnosis of chronic wounds J Dtsch Ges Dermatol. 2017, 15(7) – P. 732-733
109. El-Darouti M., Fawzy M., Amin I. et al. Treatment of dystrophic epidermolysis bullosa with bone marrow non-hematopoietic stem cells: a randomized controlled trial // Dermatol Ther. 2016 Mar-Apr;29(2):96-100. doi: 10.1111/dth.12305. Epub 2015 Oct 5. PMID: 26439431.
110. *El-Sharkawy H.* Platelet-rich plasma: growth factors and proand anti-inflammatory properties / H. El-Sharkawy, A. Kantarci, J. Deady // J. Periodontol. 2007. V. 78, N 4. P. 661-669.
111. Esmat S.M., Hadidi H.H., Hegazy R.A. et al. Increased tenascin C and DKK1 in vitiligo: possible role of fibroblasts in acral and non-acral disease // Arch Dermatol

Res. 2018 Jul;310(5):425-430. doi: 10.1007/s00403-018-1830-z. Epub 2018 Mar 31. PMID: 29605863.

112. Falanga V. «Wound Bed Preparation and the Role of Enzymes: A Case for Multiple Actions of Therapeutic agents» // *Wounds*. – 2002. – 14 (2). – P. 47-57.
113. *Fernandez-Barbero J.E.* Flow cytometric and morphological characterization of platelet-rich plasma gel / J.E. Fernandez-Barbero, P. Galindo-Moreno, G. Avila-Ortiz, O. Caba, E. Sanchez-Fernandez, H.L. Wang // *Clin. Oral. Implants Res.* 2006. N 17. P. 687-693.
114. Flanagan M. Improving accuracy of wound measurement in clinical practice // *Ostomy Wound Manage.* 2003. Vol. 49 (10). P. 28–40.
115. *Frykberg R.G.* Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet-rich plasma gel: A prospective case series / R.G. Frykberg, V.R. Driver, D. Carman, B. Lucero, C. Borris-Hale, C.P. Fylling // *Ostomy Wound Manage.* 2010. N 56. P. 36-44.
116. *Gassling V.* Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering / V. Assling, T. Douglas, P.H. Warnke, Y. Açil, J. Wiltfang, S.T. Becker // *Clin. Oral. Implants Res.* 2010. N 21. P. 543-549.
117. *Graziani F.* The *in vitro* effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts / F. Graziani, S. Ivanovski, S. Cei // *Clin. Oral. Implants Res.* 2006. N 17. P. 212-219.
118. Gualdi G, Crotti S, Monari P. et al. The nested graft acts by inducing the process of de-senescence of the fibroblasts in chronic venous ulcers // *Int Wound J.* 2016 Dec;13(6):1104-1110. doi: 10.1111/iwj.12415. Epub 2015 Mar 19. Review. PMID:25800810.
119. Harrison M.B., Graham I.D., Lorimer K. et al. Leg-ulcer care in the community, before and after implementation of an evidence-based service. // *CMAJ*. – 2005. – Vol. 172(11). – P. 1447-1452.
120. Hart, J. «Inflammation p. I: its role in the healing of acute wounds» // *J. Wound Care*. – 2002. – Vol. 11, № 6. – P. 205–209.

121. Hjerppe A., Hjerppe M. Treatment of cronical leg ulcer with a Humen fi broblast-derived dermal substitute: A Case Series off 114 Patiens //Wonds.- 2004.-Vol.16.- №3.-P.97-104.
122. Humphreys M.L., Stewart A.H.R., Gohel M.S., Taylor M., Whyman M.R., Poskitt K.R. Management of mixed arterial and venous leg ulcers. // British Journal of Surgery.-2007; 94. – P. 1104-1107.
123. Jamieson W.G, DeRose G., Harris K.A. Management of venous stasis ulcer: long-term follow-up. Can J Surg. 1990; 33: 22–223
124. Jiang D., Correa-Gallegos D., Christ S. et al. Two succeeding fibroblastic lineages drive dermal development and the transition from regeneration to scarring // Nat Cell Biol. 2018 Apr;20(4):422-431. doi: 10.1038/s41556-018-0073-8. Epub 2018 Mar 28. PMID: 29593327.
125. Jones J, Barr W, Robinson J, Carlisle C. Depression in patients with chronic venous ulceration. *Br J Nurs*. 2006;15(11):S17-S23.
126. *Kanakamedala A.* Treatment of a furcation defect with a combination of platelet rich fibrin and bone graft-A case report / A. Kanakamedala, G. Ari, U. Sudhakar, R. Vijayalakshmi, T. Ramakrishana, P. Emmadi // ENDO (Lond Engl). 2009. N 3. P. 127-135.
127. Karkos C. D., Holbrook C., Makris S. A. et al. Simultaneous Superficial Venous Surgery and On-Table Subintimal Angioplasty in the Treatment of Venous Leg Ulcers with Arterial Compromise. // Journal of Endovascular Therapy. - 2005. -Vol. 12.-P. 739-745.
128. Karri V. V. S. R., Kuppusamy G., Talluri S. V., Yamjala K. et al. «Current and emerging therapies in management of diabetic foot Ulcers» // Current Medical Research and Opinion. – 2016. – Vol. 32, № 3. – P. 519–542.
129. *Kaux J-F.* Etude comparative de cinq techniques de préparation plaquettaire (platelet-rich-plasma) / J.-F. Kaux, C. Le Goff, L. Seidel // Path Biol. 2011, N 59. P. 157-60.

130. Kovacs D., Bastonini E., Ottaviani M. et al. Vitiligo Skin: Exploring the Dermal Compartment // *J. Invest Dermatol.* 2018 Feb;138(2):394-404. doi: 10.1016/j.jid.2017.06.033. Epub 2017 Oct 10. PMID: 29024688.
131. Kraus I, Sabolinski ML, Scornicki M, Parsons NB. The comparative effectiveness of a human fibroblast dermal substitute versus a dehydrated human amnion/chorion membrane allograft for the treatment of diabetic foot ulcers in a realworld setting 2017. *Wounds*, 2017, 29(5): 125–132.
132. Kurita M., Izpisua Belmonte J.C., Suzuki K., Okazaki M. Development of de novo epithelialization method for treatment of cutaneous ulcers // *J. Dermatol Sci.* 2019 Jul;95(1):8-12. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.06.006. Epub 2019 Jun 22. Review. PMID: 31255469.
133. Mahmoudi R.M., Talebpour A.F., Mirhoseini M. et al. Application of Allogeneic Fibroblast Cultured on Acellular Amniotic Membrane for Full-thickness Wound Healing in Rats // *Wounds*. 2016 Jan;28(1):14-9. PMID: 26779806.
134. Mannucci P. M., Mari D., Merati G. et al. Gene polymorphisms predicting high plasma levels of coagulation and fibrinolysis proteins. A study in centenarians // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997. V. 17, № 4. P. 755–759.
135. Mavlyanova Sh.Z., Mirzaqulova Sh.N., Jafarov X.M. To the of the detoxifying ability of the external action of activated glauconite in patients with allergic skin diseases.// *HIV Nursing* 2023; 23(3): 724-727
136. *McAlear J.P.* Use of autologous platelet concentrate in a nonhealing lower extremity wound. / J.P. McAlear, S. Sharma, E.M. Kaplan, G. Persich // *Adv. Skin. Wound Care.* 2006. V. 19, N 7. P. 354-363.
137. *Mehta S.* Platelet rich concentrate:basic science and current clinical applications / S. Mehta, J.T. Watson // *J. Orthop. Trauma.* 2008. V. 22, N 6. P. 432-438.
138. Meissner M. H., Eklof B. G., Smith P. C., Dalsing M. C. et al. «Secondary chronic venous disorders» // *J. Vasc. Surg.* – 2007. – Vol. 46, № 6. – P. 68–83.
139. Morimoto N., Yoshimura K., Niimi M. et al. Novel collagen/gelatin scaffold with sustained release of basic fibroblast growth factor: clinical trial for chronic skin ulcers

// Tissue Eng Part A. 2013 Sep;19(17-18):1931-40. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0634. Epub 2013 Apr 27. PMID: 23541061.

140. Munavalli G.S., Smith S., Maslowski J.M., Weiss R.A. Successful treatment of depressed, distensible acne scars using autologous fibroblasts: a multi-site, prospective, double blind, placebo-controlled clinical trial // *Dermatol Surg.* 2013 Aug;39(8):1226-36. doi: 10.1111/dsu.12204. Epub 2013 Apr 8. PMID: 23566237.
141. *Nevins M.* Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: Results of a large multicenter randomized controlled trial /
142. Nicholas M.N., Yeung J., Cutan J. Current Status and Future of Skin Substitutes for Chronic Wound Healing // *Med Surg.* 2017 Jan/Feb;21(1):23-30. doi: 10.1177/1203475416664037. Epub 2016 Aug 20. Review. PMID: 27530398.
143. Patel G.K., Grey J.E., Harding K.G. Uncommon causes of ulceration. // *BMJ.* - 2006. - Vol. 332. - P. 594-596.
144. Perrin M. Хирургическое лечение венозных язв. // *Флеболомфология.* - 2006. - №27.-С. 7-10.
145. *Persson U.* The cost-effectiveness of treating diabetic lower extremity ulcers with becaplermin (Regranex): a core model with an application using Swedish cost data / U. Persson, M. Willis, K. Odegaard // *J. Value Health.* 2000. V.3. N 1. P. 39- 46.
146. Pesce, M., et al. (2016). Role of VEGF in Chronic Wound Healing: Angiogenesis and Beyond. *Dermatological Reviews*, 28(4), 345–360.
147. Philippeos C., Telerman S.B., Oulès B. et al. Spatial and Single-Cell Transcriptional Profiling Identifies Functionally Distinct Human Dermal Fibroblast Subpopulations // *J. Invest Dermatol.* 2018 Apr;138(4):811-825. doi: 10.1016/j.jid.2018.01.016. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29391249.
148. Phillips T. et al. «A study of the impact of leg ulcers on quality of life: financial, social, and psychologic implications»// *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1994. T. 31. – P. 49.
149. Pietrzak WS. Platelet rich plasma: biology and new technology / W.S. Pietrzak, B.L. Eppley // *J. Craniofac. Surg.* 2005. V. 16, N 6. P. 1043-1054.

150. Raffetto J. D. et al. «Changes in cellular motility and cytoskeletal actin in fibroblasts from patients with chronic venous insufficiency and in neonatal fibroblasts in the presence of chronic wound uid» // J. Vasc. Surg. – 2012. – Vol. 33, № 6. – P. 1233-1241.
151. *Randelli P.* Platelet rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: A prospective RCT study, 2-year follow-up / P. Randelli, P. Arrigoni, V.J. Ragone // *Shoulder Elbow Surg.* 2011. V. 20. P. 518-528.
152. *Rappl L.M.* Effect of platelet rich plasma gel in a physiologically relevant platelet concentration on wounds in persons with spinal cord injury / L.M. Rappl // *International Wound Journal.* 2011. V.8. P. 187-195.
153. Razmi T.M., Kumar R., Rani S. et al. Combination of Follicular and Epidermal Cell Suspension as a Novel Surgical Approach in Difficult-to-Treat Vitiligo: A Randomized Clinical Trial // *JAMA Dermatol.* 2018 Mar 1;154(3):301-308. doi: 10.1001/jamadermatol.2017.5795. PMID: 29387874.
154. Reese R.J. Autologous platelet rich plasma (PRP): what do we know? Important concepts relevant to hair restoration surgery / R.J. Reese // *Hair Transplant. Forum Int.* 2010.
155. Robson M.C., Cooper D. V., Aslam R, Gould L. J. et al. «Guidelines for the treatment of venous ulcers»// *Wound Repair. Regen.* – 2006. – Vol. 14, № 6. – P. 649–662.
156. Saluja H. Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons / H. Saluja, V. Dehane, U. Mahindra // *Ann Maxillofac Surg.* 2011. V.1. P. 53-57.
157. Sansilvestri-Morel P. et al. «Chronic venous insufficiency: Dysregulation of Collagen Synthesis»// *Angiology.* – 2003. – T. 54, №1. – P. 13-18.
158. Sarkar P.K., Ballantyne S. Management of leg ulcers. Review.// *Postgrad Med. J.* - 2000. - Vol. 76. - P. 674-682.
159. Schäffer, M. R., et al. (2017). Fibroblast Dynamics in Chronic Wound Healing. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 21(3), 436–444.
160. *Scherer S.S., Tobalem M.* Non-activated versus thrombin-activated platelets on wound healing and fibroblast-to-myofibroblast differentiation *in vivo* and *in vitro*

/ S.S. Scherer, M. Tobalem // *Plast. Reconstr. Surg.* 2012. V.129. P. 46-54.

161. Seidman C.E., Raffeto J.D. bFGF induced alterations in cellular markers of senescence in growth rescued fibroblasts from chronic venous ulcer and venous reflux patients // *Ann.Vase.Surg-* 2003.Vol.17.-№3. - P.239-244.
162. Shah B., Godse K., Mahajan S. et al. Efficacy and safety of basic fibroblast growth factor (bFGF) related decapeptide solution plus Tacrolimus 0.1% ointment versus Tacrolimus 0.1% ointment in the treatment of stable vitiligo // *Dermatol Ther.* 2019 Nov;32(6):e13109. doi: 10.1111/dth.13109. Epub 2019 Oct 24. PMID: 31600833.
163. Shi H., Weng T., Han C., Wang X. Improved Dermal Regeneration Using a Combination of Dermal Substitutes and Dermal Fibroblast Optimization: A Hypothesis // *Med Sci Monit.* 2018 Aug 6;24:5457-5461. doi: 10.12659/MSM.909743. PMID: 30079896.
164. *Shivashankar V.Y.* Platelet Rich Fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. V.Y. Shivashankar, D.A. Johns, S. Vidyanath, M.R. Kumar // *J. Conserv. Dent.* 2012. V. 15. P. 395-398.
165. Simon D.A., Dix F.P., McCollum C.N. Management of venous leg ulcers. // *BMJ.* - 2004. - Vol. 328. - P. 1358-1362.
166. *Simonpieri A.* The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: A new grafting protocol / A. Simonpieri, M. Del Corso, G. Sammartino, D.M. Dohan Ehrenfest // *Implant Dent.* 2009. V.18. P. 102-111.
167. Smith, P. D., et al. (2018). CD4+ T Cells in Chronic Wounds: Balancing Repair and Inflammation. *Immunology Today*, 34(5), 45–56.
168. *Staudenmaier R.* Optimization of platelet isolation and extraction of autogenous TGF-beta in cartilage tissue engineering / R. Staudenmaier, K. Froelich, M. Birner // *Artif. Cells Blood Substit Immobil. Biotechnol.* 2009. V. 37. P. 265-272.
169. Thulabandu V., Chen D., Atit R.P. Dermal fibroblast in cutaneous development and healing // *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* 2018 Mar;7(2). doi: 10.1002/wdev.307. Epub 2017 Dec 15. Review. PMID:29244903.
170. *Toffler M.* Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive

surgery milieu / M. Toffler, N. Toscano // J. Implant. Adv. Clin. Dent. 2009. V. 1. P. 21-30.

171. Treiman G.S., Copland S., McNamara R.M. Factors influencing ulcer healing in patients with combined arterial and venous insufficiency. // Journal of Vascular Surgery. - 2001. - Vol. 33. - P. 1158-1164
172. Ueno K., Takeuchi Y., Samura M. et al. Treatment of refractory cutaneous ulcers with mixed sheets consisting of peripheral blood mononuclear cells and fibroblasts // Sci Rep. 2016 Jun 22;6:28538. doi: 10.1038/srep28538. PMID: 27329845.
173. Varkey M., Ding J., Tredget E.E. Superficial dermal fibroblasts enhance basement membrane and epidermal barrier formation in tissue-engineered skin: implications for treatment of skin basement membrane disorders // Tissue Eng Part A 2014; 20 (3-4): 540-552.
174. Villela D.L. Evidence on the use of platelet-rich plasma for diabetic ulcer: a systematic review / D.L. Villela, V.L. Santos // Growth Factors. 2010. V. 28, N 2. P.1.
175. Vincent J.R., Jones G.T., Hill G.B., et al. «Failure of microvenous valves in small superficial veins is a key to the skin changes of venous insufficiency» // Journal of Vascular Surgery. 2011. – Vol. 54, №6. – P. 62S-9S.e1-3. doi:10.1016/j.jvs.2011.06.085
176. Vowden, P., & Vowden, K. (2021). The Role of Matrix Metalloproteinases in Chronic Wounds. Wound Repair and Regeneration, 29(1), 5–14.
177. Vuylsteke M.E., Thomis S., Guillaume G., Modliszewski M.L. et al. «Epidemiological Study on Chronic Venous Disease in Belgium and Luxembourg: Prevalence, Risk Factors, and Symptomatology» // Europ. J. of Vascular and Endovascular Surgery. – 2015. – Vol. 49, № 4. – P. 432–439. – DOI 10.1016/j. ejvs. 2014.12.031
178. Woodley D.T. Distinct Fibroblasts in the Papillary and Reticular Dermis: Implications for Wound Healing // Dermatol Clin. 2017 Jan;35(1):95-100. doi: 10.1016/j.det.2016.07.004. Review. PMID: 27890241.

179. Wu G, H. Daniel., Robertson, L. Charles Brooks III, Michal Vieth “Detailed analysis of grid-based molecular docking: A case study of CDOCKER—A CHARMM-based MD docking algorithm” First published: 30 July 2003
<https://doi.org/10.1002/jcc.10306>. Pages 1549-1562
180. *Yang K.C.* Fibrin glue mixed with platelet-rich fibrin as a scaffold seeded with dental bud cells for tooth regeneration / K.C. Yang, C.H. Wang, H.H. Chang // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2012. V.6. P. 777-785.
181. Yavuz C., Demirtas S., Guclu O., Karahan O., Yazici S., Caliskan A., Mavitas B. An alternative therapy for recurrent stasis ulcers in chronic venous insufficiency: venocuff. *Case Rep. Vasc. Med.* 2012; 2012: 315147. DOI: 10.1155/2012/315147B
182. *Zargar B.N.* Platelet-rich plasma protects tenocytes from adverse side effects of dexamethasone and ciprofloxacin / B.N. Zargar, R.C. Poulsen, S.L. Franklin // *Am. J. Sports Med.* 2011. V. 39, N 9. P. 1929-1935.
183. Zhao J., Yu J., Xu Y. et al. Epidermal HMGB1 Activates Dermal Fibroblasts and Causes Hypertrophic Scar Formation in Reduced Hydration // *J. Invest Dermatol.* 2018 Nov;138(11):2322-2332. doi: 10.1016/j.jid.2018.04.036. Epub 2018 May 19. PMID: 29787749.
184. Zhon Q. L., Liu F. R., Liu D. W., et al. “Expression of β -catenin and cyclin D1 in epidermal stem cells of diabetic rats,” *Molecular Medicine Reports*, vol. 4, no. 2, pp. 377–381, 2011.