

НАО «Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата  
Оспанова»

УДК: 616.13-004.6:617.58-089(043)  
МРНТИ 76.29.39

На правах рукописи

**ЧИНАЛИЕВ АЗАТ МЫРЗАБАЕВИЧ**

**Комбинированные методы коррекции раневого процесса при длительно  
незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим  
заболеванием артерий нижних конечностей**

8D10102 «Медицина»

Диссертация на соискание степени  
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:

профессор, д.м.н. Жакиев Базылбек Сагидоллиевич;  
асс. профессор, к.м.н. Сапарбаев Самат Сагатович;  
профессор, д.м.н. Султаналиев Токан Анарбекович

Зарубежные консультанты:

д.м.н. Кретов Евгений Иванович (Россия);  
PhD, профессор Луис Рене Ариас Виллароель (Мексика)

Республика Казахстан  
г.Актобе, 2026г.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>НОРМАТИВНЫЕ СЫЛКИ</b> .....	3
<b>ОПРЕДЕЛЕНИЯ</b> .....	4
<b>ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ</b> .....	6
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	7
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	12
1.1 Эпидемиология, этиология и патогенез длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей.....	12
1.2 Современные методы лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей.....	18
1.3 Рентгенэндоваскулярная реваскуляризация в лечении хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей.....	23
1.4 Фибробласты и их роль в репарации тканей.....	27
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	32
2.1 Общая характеристика исследования.....	32
2.2 Методы исследования.....	34
2.3 Методика рентгенэндоваскулярной реваскуляризации.....	40
2.4 Методика локального применения аллогенных фибробластов.....	40
2.5 Статистические методы обработки данных.....	46
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....	47
3.1 Клиническая эффективность комбинированного метода лечения.....	55
3.2 Результаты местного применения аллогенных фибробластов при длительно незаживающих ранах у пациентов с хронической артериальной недостаточностью.....	63
3.3 Анализ отдаленных результатов комбинированного метода лечения длительно незаживающих ран у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей.....	74
<b>4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	87
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	95
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b> .....	96
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b> .....	97
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	115

## НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие нормативные документы и стандарты:

ГОСТ 2.001-2013 - ГОСТ 1.0-2015 "Межгосударственная система стандартизации. Основные положения" и ГОСТ 1.2-2015 "Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены"

Закон Республики Казахстан «О науке» от 18.02.2011 года, № 407-IVЗРК (с изменениями и дополнениями по состоянию на 01.01.2022г.).

Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 4 июля 2022 года № ҚР ДСМ-63 Государственный общеобязательный стандарт послевузовского образования (Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан «Об утверждении государственных общеобязательных стандартов по уровням образования в области здравоохранения». Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 5 июля 2022 года № 2871).

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.32-2017 (Межгосударственный стандарт). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

Общие требования к текстовым документам.

Закон Республики Казахстан «О науке» от 18.02.2011 г. № 407-IV ЗРК; Инструкция по оформлению диссертации и автореферата, утвержденные приказом Председателя ВАК МОН РК №377-3ж от 28.09.2004; Государственный общеобязательный стандарт послевузовского образования. Докторантура, утвержденный приказом МОН РК от 31 октября 2018 года № 604;

Правила присуждения ученых степеней, утвержденные приказом МОН РК от от 18.07.2024 № 352;

Этические принципы проведения исследований в медицине с участием человека: Хельсинская декларация Всемирной Медицинской Ассоциации (ВМА): утв. на 18-й Генеральной Ассамблее ВМА (06.1964 г., Хельсинки, Финляндия; крайние изменения внесены 10.2013 г. Форталеза, Бразилия на 64-й Генеральной Ассамблее ВМА.

Периодические протоколы диагностики и лечения РГП на ПХВ «Республиканский центр развития здравоохранения» Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от «30» ноября 2015года  
Протокол № 18

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

**Ангиография** – это рентгенологическое исследование с применением рентгенконтрастных препаратов, позволяющее получать детальные изображения артерий, вен, капилляров и кровотока внутри них.

**Ангиограф** – высокотехнологичный рентгенохирургический аппарат, на котором проводятся эндоваскулярные вмешательства.

**Ангиопластика** – это процедура восстановления пораженной артерии с использованием тонкого катетера с расширяемым баллоном на конце

**Атеросклероз** – хроническое заболевание артерий, сопровождающееся образованием на стенках артерий жировых отложений – атеросклеротических бляшек. Последующее разрастание в них соединительной ткани и отложение кальция могут привести к полному закрытию просвета артерии.

**Атеросклеротическая бляшка** – жировое отложение на стенке артерии. В последствии приводящее к сужению просвета сосуда (стенозу), либо к полному закрытию (окклюзии).

**Баллон** – специальный рентгенохирургический тонкий пластиковый инструмент с баллоном на конце. Используется для баллонной дилатации.

**Баллонная дилатация** – процесс восстановления просвета сосуда путем раздувания баллона в месте сужения.

**Заболевания периферических артерий** – это синдромы, связанные с поражением экстракраниальных, висцеральных и почечных артерий, брюшной аорты и артерий конечностей.

**Имплантация** – вшивание протеза или аутовенозного трансплантата в сосуд либо установка специального внутрисосудистого стента, устройства в просвет сосуда.

**Ишемия** – состояние, при котором уменьшается приток крови в какой-либо орган, приводящее к повреждению тканей органа, в следствии чего нарушается функциональная работоспособность органа и систем.

**Комбинированный метод лечения** – рентгенэндоваскулярная реваскуляризация с локальным применением аллогенных фибробластов

**Коллатерали или коллатеральные сосуды** – собственные обходные ветви кровеносных сосудов, обеспечивающие притоки или отток крови в обход основного сосуда при его тромбозе, облитерации.

**Критическая ишемия конечности** – синдром декомпенсации хронической артериальной недостаточности конечности вследствие ЗАНК, основными клиническими признаками которого являются боль в покое, не купируемая наркотическими анальгетиками и (или) наличие язвенно-некротического процесса стопы

**Некроз** – патологическое состояние, для которого характерно прекращение жизнедеятельности клеток в мягких тканях.

**Облитерирующие заболевания артерий** – это хроническое заболевание, характеризующееся формированием холестериновых бляшек на стенках артерий. Эти образования нарушают кровотоки могут привести к полной закупорке сосудов.

**Окклюзия или закупорка** – состояние, характеризующееся полным перекрытием просвета артерии атеросклеротической бляшкой или тромбом, препятствуя кровотоку.

**Острая ишемия** – это острое состояние, которое возникает из-за резкого уменьшения притока крови, что представляет угрозу жизнеспособности ткани

**Перемежающаяся хромота** – синдром преходящей хронической ишемии конечности, которая проявляется недомоганием, дискомфортом или болью в мышцах нижней конечности (чаще - в икре, реже - ягодичной области, бедре, стопе), возникающих при физической нагрузке.

**Постишемический синдром** – комплекс жалоб (боль, онемение, чувство зябкости и покалывания, ограничение движения конечности), обусловленных длительным обескровливанием тканей.

**Реваскуляризация конечности** – восстановление кровоснабжения конечности в результате одного из вариантов лечения, сопровождающееся купированием (уменьшения) ишемического синдрома, вызванного тяжелыми морфофункциональными изменениями артериального русла при ЗАНК.

**Рентгеноэндоваскулярная хирургия** – совокупность внутрисосудистых, чрескожных, чрескатетерных диагностических и лечебных манипуляций, осуществляемых под рентгеновским контролем. Синонимы: Интервенционная рентгенхирургия, Эндоваскулярная хирургия, Рентгенохирургия.

**Ретромбоз** – повторная закупорка просвета сосуда тромбомассами либо эмболами.

**Рестеноз** – повторное сужение сосуда в месте раннее проведенных оперативных вмешательств.

**Реканализация** – восстановление просвета «закрытой» (окклюзированной) артерии.

**Стеноз** – сужение внутреннего просвета артерии

**Стент** – это медицинское устройство, представляющее собой каркас в форме плетеного металлического цилиндра, устанавливаемый в пораженные (узкие) места в сосуде для их расширения, тем самым обеспечивая нормальный кровоток. Стенты бывают лекарственным покрытием и без лекарственного покрытия.

**Стентирование** – укрепление стенки сосуда изнутри стентом.

**Тромб** – сгусток крови, который образуется на внутренней (как правило, измененной) поверхности сосуда.

**Тромбоз** – острая (быстрая) закупорка просвета сосуда.

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

АГ — артериальная гипертензия  
АТФ – аденозинтрифосфат  
АФК - активных форм кислорода  
ВАШ – визуальная аналоговая шкала  
ВКМ - внеклеточный матрикс  
ДБХ – дистанция без болевой ходьбы  
ЗАНК — заболевания артерий нижних конечностей  
ЗПА — заболевания периферических артерий  
ЗПА — заболевания периферических артерий  
ИБС — ишемическая болезнь сердца  
КТ — компьютерная томография  
КИНК — критическая ишемия нижних конечностей  
ЛПВП — липопротеиды высокой плотности  
ЛПИ — лодыжечно-плечевой индекс  
ЛПНП — липопротеиды низкой плотности  
ЛФК — лечебная физкультура  
МНО — международное нормализованное отношение  
МРТ — магнитно-резонансная томография  
ММП-1, 2, 9 - матриксные металлопротеиназы  
МСК - мезенхимальные стволовые клетки  
МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография с контрастированием  
ННОЦ – Национальный Научный Онкологический центр  
НПА — наружная подвздошная артерия  
НПВС — нестероидные противовоспалительные средства  
ОА — облитерирующий атеросклероз  
ОААНК — облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей  
ОАК — общий анализ крови  
УЗ ДС — ультразвуковое дуплексное сканирование  
УЗИ — ультразвуковое исследование  
ХИНК — хроническая ишемия нижних конечностей  
ХОЗАНК — Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей,  
ЧСС — частота сокращений сердца  
ЭКГ — электрокардиография  
ЭХОКГ — эхокардиография  
bFGF - основной фактор роста фибробластов  
IGF-1 - инсулиноподобный фактор роста-1  
NO - оксида азота  
PDGF-BB - тромбоцитарный фактор роста  
PGI2 – простациклин  
TGF- $\beta$ 1 - трансформирующий фактор роста- $\beta$   
VEGF-A, VEGF-C - васкулоэндотелиальные факторы роста

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей (ХОЗАНК), или заболевания периферических артерий (ЗПА), представляют собой одно из наиболее распространённых проявлений системного атеросклероза [1, 2]. Эти состояния обусловлены прогрессирующим стенозом или окклюзией артерий нижних конечностей и сопровождаются нарушением кровоснабжения тканей, что ведёт к развитию ишемии и формированию длительно незаживающих ран. Согласно данным литературы, ЗПА диагностируется примерно у 202 миллионов человек во всём мире [3], а его распространённость увеличивается с возрастом и ростом числа факторов риска: сахарного диабета (СД), артериальной гипертензии (АГ), гиперхолестеринемии, курения, а также наличия отягощённого семейного анамнеза [4, 5].

В Казахстане согласно данным РГП на ПХВ «Национальный Научный Центр развития здравоохранения имени Салидат Каирбековой» МЗ РК, ежегодно более 6000 пациентов подвергаются хирургическому лечению по поводу облитерирующего атеросклероза артерий конечностей, причём более чем в 400 случаях заболевание приводит к летальному исходу.

В 1/3 случаев трофические раны на фоне ХОЗАНК не поддаются длительному заживлению, у 70% пациентов наблюдаются рецидивы, что существенно снижает качество жизни и приводит к высоким медицинским и социальным издержкам [6, 7].

В экономически развитых странах на лечение длительно незаживающих ран нижних конечностей ежегодно тратятся миллиарды долларов. Так, в США эти расходы составляют около 15,3 млрд долларов в год. Только у 30—75% пациентов хронические раны заживают в течение 6 месяцев при стандартной терапии, что подчёркивает ограниченную эффективность существующих методов [8, 9].

Длительно незаживающие раны становятся «тихой эпидемией», затрагивающей более 40 миллионов человек по всему миру, нарушая качество жизни и приводя к инвалидизации и ранней смертности. Средняя продолжительность жизни после ампутации нижней конечности составляет около 3 лет, а пятилетняя выживаемость — не более 40% [10, 11].

Исходя из принципов патогенеза длительно незаживающих ран конечностей, успех лечения невозможен без улучшения кровообращения и устранения гемодинамических нарушений в поражённой конечности, к сожалению этого недостаточно для полного и быстрого заживления ран. В комбинации методов лечения длительно незаживающих ран конечностей на фоне хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей ведущей составляющей являются хирургические операции. Традиционные открытые реконструктивные операции связаны с высоким риском осложнений, особенно у пожилых и соматически отягощённых больных. В связи с этим

рентгенэндоваскулярная реваскуляризация является методом выбора, благодаря своей минимальной инвазивности, высокой безопасности и доступности [12].

Однако даже при успешной реваскуляризации добиться полного и стабильного заживления трофических ран не всегда удаётся. Это указывает на необходимость комплексного лечения с применением комбинированных методов, включающих не только восстановление кровотока, но и стимуляцию процессов тканевой регенерации [13, 14].

Одним из перспективных направлений в современной регенеративной медицине является клеточная терапия. Особый интерес представляют фибробласты — клетки соединительной ткани, активно участвующие в репаративной регенерации, синтезе межклеточного матрикса, коллагена, эластина, гиалуроновой кислоты, а также в эпителизации и ангиогенезе [15, 16]. Их применение в лечении незаживающих ран может значительно ускорить заживление и улучшить качество образующейся ткани. Фибробласты обладают способностью усиливать пролиферацию и дифференцировку клеток, а также мобилизовать фагоцитарный ответ, что особенно важно на фоне хронической ишемии и метаболических нарушений при СД [17, 18].

Таким образом, несмотря на значительные достижения в области сосудистой хирургии и регенеративной медицины, проблема эффективного лечения данной категории пациентов сохраняет свою актуальность. На сегодняшний день отсутствуют унифицированные и стандартизированные подходы, обеспечение устойчивого и полного заживления ишемических ран, что обуславливает необходимость проведения комплексных исследований, направленных на оптимизацию терапевтических стратегий и разработку эффективных методов коррекции раневого процесса. Поиски решений вышеизложенных вопросов легли в основу наших научных изысканий.

### **Цель исследования:**

Оценить эффективность комбинированного метода коррекции раневого процесса путем рентгенэндоваскулярной реваскуляризации и локального применения аллогенных фибробластов при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей.

### **Задачи исследования**

1. Разработать и обосновать комбинированный метод лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей, включающий сочетание локального применения аллогенных фибробластов с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией артерий.
2. Изучить течение регенеративного процесса при длительно незаживающих ранах нижних конечностей на фоне локального применения аллогенных фибробластов в сочетании с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией сосудов при хронической артериальной недостаточности нижних конечностей.
3. Провести оценку непосредственных и отдалённых результатов применения

разработанного комбинированного метода лечения длительно незаживающих ран нижних конечностей в сравнении с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией артерий без применения аллогенных фибробластов.

### **Научная новизна**

1. Впервые разработан и апробирован в клинической практике комбинированный способ лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей, включающий сочетание рентгенэндоваскулярной реваскуляризации и местное применение аллогенных фибробластов (Заявка на изобретение (патент) «Способ коррекции раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей» № 2025/0718.1 от 31.07.2025).
2. Впервые установлены особенности течения длительно незаживающих ран нижних конечностей на фоне применения комбинированного метода лечения, включающего локальную клеточную терапию аллогенными фибробластами в сочетании с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией, исходом которого является активация репаративной регенерации и ускорение заживления раневых дефектов.
3. Впервые проведена оценка клинической эффективности разработанного метода лечения, основанного на сочетании локального применения аллогенных фибробластов и рентгенэндоваскулярной реваскуляризации при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей.

### **Теоретическая значимость исследования**

- Теоретическая значимость проведённого исследования заключается в научном и клиническом обосновании концепции комбинированного лечения раневого процесса, основанной на сочетанном использовании рентгенэндоваскулярной реваскуляризации и аллогенных фибробластов.
- Установлено положительное влияние аллогенных фибробластов при локальном применении на ключевой механизм стимуляции ангиогенеза и регенерации тканей в условиях хронической ишемии.
- На основании результатов сравнительного изучения с традиционными методами лечения длительно незаживающих ран нижних конечностей доказана высокая эффективность рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с локальным применением аллогенных фибробластов.

### **Практическая значимость исследования**

Разработан и внедрён в клиническую практику новый комбинированный метод лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей осуществляемый путём рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с локальным применением аллогенных фибробластов, что расширяет арсенал хирургических методов лечения.

Разработанный комбинированный метод лечения позволяет снизить количество повторных хирургических вмешательств и высоких ампутаций конечности, тем самым улучшить результаты лечения больных с длительно незаживающими ранами нижних конечностей на фоне хронического облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Комбинированный метод коррекции длительно незаживающих ран у пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей, основанный на сочетании рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с локальным применением аллогенных фибробластов является патогенетически обоснованным, технически выполнимым и клинически высокоэффективным способом лечения данной категории больных.
2. Локальное применение аллогенных фибробластов в сочетании с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией способствует улучшению течения раневого процесса - ускоренному переходу от воспаления к пролиферации и ремоделированию, а также повышению эффективности репаративной регенерации раневой поверхности.
3. Сочетание локального применения аллогенных фибробластов с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией при длительно незаживающих ранах позволяет ускорить первичное и полное заживления ран, снизить интенсивность болевого синдрома, уменьшить количество повторных хирургических вмешательств и высоких ампутаций конечностей, тем самым сокращает сроки лечения и количество больных с неудовлетворительными результатами.

### **Апробация результатов исследования состоялась**

Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на: заседании проблемной комиссии ЗКМУ имени Марата Оспанова, Казахстан, научно-практической конференции – «XIX мировой конгресс международного общества флебологов (UIP – union international of phlebology), (г.Стамбул 2022г.) Турция, на международной научно практической конференции «30-й мировой конгресс международного общества ангиологов» г.Порто-Алегро, (2023г. Бразилия), научно-практическая конференция «Третий международный форум Ассоциации флебологов Узбекистана» (2023г., Ташкент), на «V съезде Казахстанского общества сосудистых хирургов» 23 мая 2025г., г.Туркестан.

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 3 научные печатные работы, в издании Scopus, квартиль 2. Результаты исследования опубликованы в 2 сборниках тезисов.

1. «Femoro-popliteal endovascular interventions» Videosurgery Miniinv 2024; 19 (2): 187–197. DOI: <https://doi.org/10.5114/wiitm.2024.139548>
2. Журнал с Q2 «European Review for Medical and Pharmacological Sciences»  
Наименование статьи: «Results of endovascular interventions for peripheral arterial diseases on the targeted arterial segments» 2024 Oct;28(20): стр.4451- 4460.  
DOI: 10.26355/eurrev\_202410\_36868.

3. Журнал с Q2 «Wideochirurgia I Inne Techniki Maloinwazyjne»

Наименование статьи: «Allogeneic fibroblasts versus conventional debridement after successful endovascular interventions on the healing of chronic ulcers following peripheral arterial diseases». DOI: 10.20452/wiitm.2025.17959

4. Чиналиев А.М., Султаналиев Т.А., Жакиев Б.С., Кретов Е.И., Сапарбаев С.С., Хасенов Д.Т. «Комбинированные методы коррекции раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей». Сборник тезисов V съезда Казахстанского общества сосудистых хирургов на тему: «Избранные вопросы ангиологии и сосудистой хирургии. Взгляд в будущее» Туркестан, 23-24 Мая, страницы 51-52.

5. Чиналиев А.М., Султаналиев Т.А., Жакиев Б.С., Кретов Е.И., Сапарбаев С.С., Luis R.A. «Комбинированные методы коррекции длительно незаживающих ран нижних конечностей». Сборник тезисов IV съезда Казахстанского венозного форума с международным участием. 9-10 Августа 2024г. Алматы, страницы 49-50.

### **Результаты внедрения исследования в практическое здравоохранение и образовательный процесс**

1. Результаты настоящего исследования используются в комплексном лечении больных с длительно незаживающими ранами на фоне хронического облитерирующего заболевания артерий нижних конечностей в сосудистом отделении ТОО «ННОЦ» г.Астана. Акт внедрения №9 – июнь 2025г.

2. Авторское свидетельство на учебное пособие: «Рентген-эндоваскулярная реканализация при сочетанном атеросклеротическом поражении подвздошных артерий» - №41995 от 12 января 2024г.

3. Подана заявка на получение патента: «Способ коррекции раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей» № 2025/0718.1 от 31.07.2025, которая прошла формальную экспертизу и находится на стадии экспертизы по существу.

4.

### **Личный вклад автора**

Разработка цели и задач научного исследования, сбор и согласование данных клинических, лабораторных, гистологических исследований, статистическая обработка результатов исследований, формулирование выводов и практических рекомендаций.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертационная работа написана на русском языке, изложена на 118 страницах печатного компьютерного текста, включающая титульный лист, содержание, нормативные ссылки, определения, обозначения и сокращения, введение, основную часть, заключение, выводы, практические рекомендации и список использованной литературы. Диссертация иллюстрирована 24 рисунками, 18 таблицами и 3 диаграммами. Список использованной литературы состоит из 190 источников (из них 152 англоязычных журналов, международных рекомендаций, систематических обзоров, монографии, 38 русскоязычные литературы, патентов).

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Эпидемиология, этиология и патогенез длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей

Хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей (ХОЗАНК) страдает около 2-3% населения Земного шара (более 100 миллионов человек), причем с возрастом заболеваемость увеличивается, достигая на седьмом десятилетии жизни 5–7 % [18, 19, 20, 175, 178]. Среди всех ХОЗАНК по частоте, по трудностям, осложнениям и неблагоприятным исходам лечения выделяются периферические формы поражения магистральных сосудов [21, 22, 173]. По данным отечественных и зарубежных авторов, они составляют более 40% страдающих данной болезнью. При облитерирующем тромбангите, синдроме Рейно и диабетической ангиопатии поражаются терминальные артерии малого калибра и микроциркуляторное русло [23, 24, 25]. Тромбозы бедренно-подколенно-берцовых шунтов развиваются чаще всего в связи с прогрессированием облитерирующего процесса воспринимающего русла [26, 27]. Из-за высокого периферического сопротивления на фоне практически нормальной проходимости подвздошной, бедренной и даже подколенной артерий, у этой группы пациентов быстро развиваются явления критической ишемии нижних конечностей (КИНК), грозящие ампутацией в короткие сроки [28,182]. У 15–20% больных из-за окклюзии артерий голени и стопы шунтирующие операции не выполняются, а производится ампутация пораженной конечности [29,177]. Частота выполненных ампутаций при ХОЗАНК, осложненных критической ишемией, колеблется в пределах 500 на 1000000 населения в год . ХОЗАНК часто сочетаются с тяжелой патологией других органов и систем [30].

Длительно незаживающие раны при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей (ХОЗАНК) представляют собой серьезную клиническую проблему, значительно ухудшающую качество жизни пациентов и повышающую риск ампутации [31, 32, 7, 174]. В основе патогенеза этих ран лежит сложный комплекс патофизиологических механизмов, в которых ключевую роль играют ишемия, воспаление, инфекция, нарушения микроциркуляции и системные факторы [33, 34, 171].

Ишемия как основополагающий патогенетический фактор формирования длительно незаживающих раневых дефектов.

Критическая ишемия нижних конечностей, обусловленная прогрессирующим стенозированием или полной окклюзией магистральных артерий при хронических облитерирующих заболеваниях, представляет собой фундаментальный патофизиологический механизм, инициирующий каскад деструктивных процессов в тканях [35, 36, 176]. Недостаточная тканевая перфузия создает условия хронической гипоксии, при которой нарушается доставка кислорода и субстратов метаболизма, необходимых для поддержания нормального клеточного гомеостаза и осуществления репаративных процессов [37, 38].

В условиях критической гипоксии происходит фундаментальная перестройка клеточного метаболизма с переходом от высокоэффективного аэробного дыхания к анаэробному гликолизу [39, 40, 41]. Данный метаболический сдвиг сопровождается драматическим снижением продукции аденозинтрифосфата (АТФ) - универсального энергетического эквивалента клетки - с 36-38 молекул до 2 молекул на одну молекулу глюкозы. Параллельно наблюдается массивное накопление токсических метаболитов анаэробного гликолиза - лактата, пирувата и других недоокисленных продуктов, что приводит к развитию внутриклеточного ацидоза и нарушению ферментативных процессов [42]. Энергетический дефицит критически нарушает АТФ-зависимые процессы, включая синтез коллагена фибробластами, активную миграцию кератиноцитов, фагоцитарную активность макрофагов и пролиферацию эндотелиальных клеток [43, 44]. Недостаток энергетических субстратов приводит к угнетению белкового синтеза, нарушению работы натрий-калиевой АТФазы с последующим развитием клеточного отека и в итоге - к апоптотической гибели клеток [45].

Парадоксально, что наиболее выраженное повреждение тканей происходит не только в период ишемии, но и при восстановлении кровотока (феномен ишемии-реперфузии) [46, 170]. Реоксигенация ишемизированных тканей сопровождается взрывообразной генерацией активных форм кислорода (АФК) - супероксид-аниона, гидроксильных радикалов, пероксида водорода и синглетного кислорода. Источниками свободных радикалов служат поврежденные митохондрии, активированные нейтрофилы, ксантиноксидаза и НАДФ-оксидаза [47].

Избыточная продукция АФК инициирует цепные реакции перекисного окисления липидов клеточных мембран, приводя к их дестабилизации и нарушению избирательной проницаемости. Окислительная модификация белков вызывает конформационные изменения ферментов и структурных белков, а повреждение ДНК активирует системы репарации и может инициировать программированную клеточную смерть через p53-зависимые механизмы [47].

Ишемическое повреждение эндотелия сосудов приводит к критическому нарушению его барьерных и регуляторных функций. Поврежденные эндотелиоциты теряют способность к адекватной продукции эндогенных вазодилататоров - оксида азота (NO) и простациклина (PGI<sub>2</sub>), которые в норме поддерживают сосудистый тонус и предотвращают агрегацию тромбоцитов. Одновременно наблюдается гиперпродукция мощных вазоконстрикторов - эндотелина-1, тромбоксана А<sub>2</sub> и ангиотензина II [48, 49].

Данный дисбаланс вазоактивных медиаторов усугубляет вазоспазм и способствует развитию тромботических осложнений. Активация системы гемостаза с повышенной экспрессией тканевого фактора и фактора Виллебранда приводит к формированию микротромбов в системе микроциркуляции, что еще более усугубляет тканевую гипоксию и создает условия для прогрессирования ишемического повреждения.

В условиях хронической ишемии наблюдается парадоксальное подавление синтеза ключевых регуляторных молекул, необходимых для инициации репаративных процессов. Критически снижается продукция

васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-A, VEGF-C), основного индуктора терапевтического ангиогенеза, что препятствует формированию коллатерального кровообращения и неоваскуляризации раневого ложа [50, 51].

Дефицит тромбоцитарного фактора роста (PDGF-BB) нарушает миграцию и пролиферацию фибробластов, гладкомышечных клеток и перицитов, что критически замедляет формирование грануляционной ткани. Подавление синтеза трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ 1) приводит к нарушению синтеза коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса, препятствуя структурному ремоделированию раневого дефекта [52, 53].

Снижение продукции основного фактора роста фибробластов (bFGF) и инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) нарушает пролиферативные процессы и замедляет клеточную регенерацию, что в совокупности создает неблагоприятные условия для заживления ран и способствует их хронизации.

Хроническое воспаление является ключевым патогенетическим фактором нарушения репаративных процессов кожи.

Персистирующая воспалительная реакция представляет собой центральное звено патогенеза незаживающих раневых дефектов при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей. В условиях критической ишемии и прогрессирующего тканевого некробиоза формируется порочный круг хронического воспаления, где недостаточная оксигенация тканей инициирует каскад иммунопатологических реакций с последующей активацией резидентных и циркулирующих иммунокомпетентных клеток [54, 55, 185].

Активированные нейтрофилы, мигрирующие в зону ишемического повреждения под влиянием хемоаттрактантов, становятся основными эффекторами деструктивного воспаления. Дегрануляция нейтрофилов сопровождается массивным высвобождением арсенала литических ферментов, включая матриксные металлопротеиназы (ММП-1, ММП-2, ММП-9), нейтрофильную эластазу, катепсин G и миелопероксидазу. Данные протеолитические ферменты осуществляют неконтролируемую деградацию ключевых компонентов внеклеточного матрикса - коллагена, эластина, фибронектина и ламинина, что приводит к разрушению структурного каркаса раневого ложа и препятствует нормальному течению репаративных процессов [56, 57].

Макрофаги, являющиеся ключевыми регуляторами воспалительного ответа, в физиологических условиях демонстрируют выраженную фенотипическую пластичность. В норме происходит последовательная смена провоспалительного фенотипа M1 (классически активированные макрофаги) на противовоспалительный фенотип M2 (альтернативно активированные макрофаги). Макрофаги M1-типа осуществляют фагоцитоз патогенов и клеточного детрита, секретируя при этом провоспалительные медиаторы - фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкины IL-1 $\beta$  и IL-6, оксид азота и активные формы кислорода [58, 59, 60, 184].

В условиях хронической ишемии происходит критическое нарушение макрофагальной поляризации с персистенцией M1-фенотипа и блокадой

перехода к регенеративному M2-фенотипу. Макрофаги M2-типа, продуцирующие противовоспалительные цитокины (IL-10, IL-4, TGF- $\beta$ ), аргиназу-1 и факторы роста, остаются в дефицитном состоянии, что препятствует инициации пролиферативной фазы заживления и формированию полноценной грануляционной ткани [61, 62].

Гиперпродукция провоспалительных цитокинов формирует патологический микроклимат, характеризующийся дисбалансом между процессами синтеза и деградации внеклеточного матрикса. Фактор некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкин-1 $\beta$  стимулируют транскрипцию генов матриксных металлопротеиназ через активацию сигнальных путей NF- $\kappa$ B и AP-1, одновременно ингибируя экспрессию тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMP) [56, 57].

Интерлейкин-6 подавляет синтез коллагена I и III типов фибробластами, нарушает продукцию фибронектина и витронектина, а также ингибирует экспрессию ключевых факторов роста - тромбоцитарного фактора роста (PDGF), трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) и васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF). Данные нарушения приводят к формированию дефектного, нестабильного внеклеточного матрикса, неспособного поддерживать нормальную клеточную миграцию, пролиферацию и дифференцировку [53, 57].

Провоспалительные цитокины оказывают прямое ингибирующее воздействие на миграторную активность кератиноцитов, подавляя экспрессию интегринов и нарушая формирование межклеточных контактов. TNF- $\alpha$  индуцирует апоптоз эпителиальных клеток через активацию каспазного каскада, а IL-1 $\beta$  ингибирует пролиферацию кератиноцитов и нарушает процессы дифференцировки эпидермиса, что критически замедляет процессы реэпителизации раневой поверхности [63, 64].

Инфекционные осложнения представляют собой один из наиболее грозных факторов, существенно усугубляющих течение длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей [65]. В условиях нарушенной тканевой перфузии и хронической ишемии происходит критическое снижение локальных защитных механизмов, что создает благоприятную среду для колонизации патогенной микрофлорой и последующего развития инфекционного процесса.

Патофизиологические механизмы негативного воздействия инфекции на раневое заживление характеризуются многокомпонентностью и взаимопотенцирующим характером.

Присутствие патогенных микроорганизмов запускает мощную воспалительную реакцию с массивным высвобождением провоспалительных медиаторов, включая интерлейкины (IL-1 $\beta$ , IL-6), фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и простагландины. Данный цитокиновый шторм не только поддерживает хроническое воспаление, но и оказывает цитотоксическое воздействие на регенерирующие ткани, блокируя пролиферативную фазу заживления и препятствуя формированию полноценной грануляционной ткани [66, 67,].

Липополисахариды грамотрицательных бактерий и энтеротоксины грамположительных микроорганизмов инициируют каскад патологических реакций на клеточном уровне. Эти молекулярные факторы патогенности стимулируют избыточную продукцию матриксных металлопротеиназ (ММП-2, ММП-9), эластазы и коллагенолитических ферментов, что приводит к массивной деградациии внеклеточного матрикса и разрушению структурных компонентов раневого ложа [56].

Особую клиническую значимость приобретает способность патогенных микроорганизмов к образованию многослойных биопленочных структур на поверхности раневых дефектов. Эти высокоорганизованные микробные сообщества, заключенные в защитный полисахаридный матрикс, демонстрируют выраженную резистентность к антимикробной терапии и факторам врожденного иммунитета. Биопленки создают физический барьер, препятствующий проникновению антибиотиков и фагоцитозу нейтрофилами, одновременно служа постоянным источником бактериальных токсинов и поддерживая персистирующее воспаление в раневой области [67].

Таким образом, инфекционные осложнения формируют порочный круг патологических процессов, где ишемия способствует развитию инфекции, а инфекция, в свою очередь, усугубляет тканевую гипоксию и препятствует нормальному течению репаративных процессов.

Микроциркуляторные нарушения так же являются ключевым звеном патогенеза раневых осложнений. Структурно-функциональная дезорганизация микрососудистого русла. Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей инициируют каскад патологических изменений в системе микроциркуляции, затрагивающих все уровни сосудистой архитектуры - от артериол и венул до капиллярной сети. Длительная гипоперфузия приводит к структурному ремоделированию микрососудов с утолщением базальной мембраны, пролиферацией гладкомышечных клеток и развитием периваскулярного фиброза. Формируется феномен "капиллярной пустыни" - критическое снижение плотности функционирующих капилляров, что драматически ограничивает диффузионную способность кислорода и нутриентов к метаболически активным тканям.

В условиях хронической ишемии происходит существенное нарушение гемореологических свойств с повышением вязкости цельной крови и плазмы. Эритроциты теряют свою естественную деформируемость, необходимую для прохождения через капилляры диаметром 3-5 мкм, что приводит к феномену "сладж-синдрома" - образованию монетных столбиков эритроцитов и их агрегации в микрососудах.

Одновременно активизируется система гемостаза с гиперпродукцией фибриногена, повышением агрегационной способности тромбоцитов и усилением коагуляционного потенциала крови. Данные нарушения способствуют формированию микротромбов в терминальном сосудистом русле, создавая дополнительные препятствия для тканевой перфузии и усугубляя ишемические повреждения [35].

Эндотелиальная дисфункция служит центральным патогенетическим механизмом. Эндотелий, представляющий собой метаболически активный одноклеточный слой сосудистой стенки, в условиях хронической гипоксии претерпевает фундаментальные функциональные изменения. Нарушается продукция эндотелиального оксида азота (eNOS) - ключевого эндогенного вазодилататора, осуществляющего не только релаксацию гладкой мускулатуры сосудов, но и ингибирование агрегации тромбоцитов, адгезии лейкоцитов и пролиферации гладкомышечных клеток. Параллельно наблюдается гиперэкспрессия мощных вазоконстрикторов - эндотелина-1, который обладает в 10 раз большей вазоконстрикторной активностью по сравнению с норадреналином, и ангиотензина II, активирующего ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. Дисбаланс между вазодилатирующими и вазоконстрикторными факторами приводит к устойчивому спазму микрососудов и дальнейшему ухудшению тканевой перфузии [48, 49].

К системным и ятрогенным факторам, модифицирующие течение раневого процесса относятся: Метаболические и сердечно-сосудистые коморбидности. Сахарный диабет представляет особую угрозу для процессов заживления ран, создавая многофакторное негативное воздействие через гипергликемию, которая индуцирует неферментативное гликирование белков с образованием конечных продуктов гликирования (AGEs). Данные соединения нарушают структуру коллагена, снижают эластичность сосудистой стенки и активируют провоспалительные сигнальные пути через рецепторы RAGE [68, 69].

Хроническая почечная недостаточность усугубляет нарушения заживления через накопление уремических токсинов, которые ингибируют пролиферацию фибробластов и кератиноцитов, а также через развитие системной интоксикации и иммуносупрессии. Артериальная гипертензия способствует прогрессированию атеросклеротических изменений и ускоряет развитие микроангиопатии [70, 71].

Недостаточное поступление белков приводит к дефициту аминокислот - строительных блоков для синтеза коллагена, особенно критичными являются пролин, глицин и гидроксипролин. Дефицит витамина С (аскорбиновой кислоты) нарушает гидроксилирование пролина и лизина, что приводит к синтезу дефектного коллагена с пониженной механической прочностью.

Недостаток цинка, являющегося кофактором более чем 300 ферментов, критически нарушает ДНК-полимеразную активность и белковый синтез. Дефицит витамина А ухудшает эпителизацию ран, а недостаток витаминов группы В нарушает клеточный метаболизм и энергообеспечение репаративных процессов [72, 73].

Физиологическое старение сопровождается прогрессивным снижением регенеративного потенциала тканей вследствие укорочения теломер, накопления сенесцентных клеток и снижения продукции факторов роста. У пожилых пациентов наблюдается замедление всех фаз заживления ран - воспалительной, пролиферативной и ремоделирования, что обусловлено снижением функциональной активности фибробластов, кератиноцитов и эндотелиальных клеток [74].

Токсическое воздействие табакокурения. Никотин и продукты горения табака оказывают многофакторное негативное воздействие на процессы заживления. Никотин индуцирует вазоспазм периферических сосудов, снижая тканевую перфузию на 25–30%. Карбоксигемоглобин, образующийся при связывании окиси углерода с гемоглобином, снижает кислородтранспортную функцию крови. Циановодород подавляет клеточное дыхание на уровне цитохромоксидазы, а акролеин оказывает прямое цитотоксическое действие на эпителиальные клетки.

Системные глюкокортикостероиды подавляют все фазы заживления ран через ингибирование синтеза коллагена, супрессию воспалительного ответа и иммуносупрессивное действие. Нестероидные противовоспалительные препараты нарушают синтез простагландинов, необходимых для нормального течения воспалительной фазы и ангиогенеза.

Цитостатические препараты ингибируют пролиферацию клеток и подавляют иммунный ответ, а антикоагулянты могут способствовать развитию кровотечений и нарушению формирования фибринового каркаса раны [75, 76].

Таким образом, патогенез длительно незаживающих ран при ХОЗАНК представляет собой сложный многофакторный процесс, в котором ключевую роль играют ишемия, воспаление, инфекция и нарушения микроциркуляции. Понимание этих патофизиологических механизмов необходимо для разработки эффективных методов лечения, направленных на улучшение кровоснабжения тканей, снижение воспаления, борьбу с инфекцией и стимуляцию процессов регенерации. Комплексный подход к лечению, включающий реваскуляризацию, местную терапию и коррекцию системных факторов, является наиболее эффективным способом добиться заживления ран и улучшения качества жизни пациентов с ХОЗАНК.

## **1.2 Современные методы лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей**

Длительно незаживающие раневые дефекты при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей представляют собой мультифакториальную клиническую проблему, требующую интегрированного мультидисциплинарного подхода. Современная терапевтическая концепция базируется на патогенетически обоснованном воздействии на ключевые звенья патологического процесса: коррекцию критической ишемии, элиминацию инфекционного фактора и активацию репаративно-регенеративных механизмов. Существующий арсенал лечебных методик характеризуется выраженной гетерогенностью и может быть систематизирован в соответствии с принципами доказательной медицины на консервативные и хирургические подходы [77, 78, 183, 188].

### *Консервативные методы лечения.*

Фармакологическая коррекция гемореологических нарушений: антиагрегантная и антикоагулянтная терапия представляет фундаментальное направление патогенетического лечения, направленное на оптимизацию реологических характеристик крови и профилактику тромбоэмболических

осложнений. Ацетилсалициловая кислота в дозе 75-100 мг/сут обеспечивает необратимое ингибирование циклооксигеназы-1 тромбоцитов, подавляя синтез тромбоксана А<sub>2</sub> и снижая агрегационную активность. Клопидогрель, являющийся селективным антагонистом P2Y<sub>12</sub>-рецепторов тромбоцитов, демонстрирует превосходящую эффективность по сравнению с аспирином в снижении риска сердечно-сосудистых событий у пациентов с заболеваниями периферических артерий [79, 80, 181].

Применение пероральных антикоагулянтов - варфарина и новых оральных антикоагулянтов (ривароксабан, апиксабан, дабигатран) - показано при высоком риске тромбоемболических осложнений, однако требует тщательного мониторинга коагулологических параметров и оценки соотношения польза/риск геморрагических осложнений. Данные терапевтические подходы способствуют улучшению проходимости дистального сосудистого русла и снижению прогрессирования ишемических нарушений [81].

Вазоактивная фармакотерапия направлена на коррекцию микроциркуляторных расстройств и оптимизацию тканевой перфузии. Пентоксифиллин, обладающий способностью улучшать деформируемость эритроцитов и снижать вязкость крови, демонстрирует умеренную эффективность в увеличении дистанции безболевой ходьбы. Цилостазол, являющийся селективным ингибитором фосфодиэстеразы III, обеспечивает не только антиагрегантный эффект, но и вазодилатацию за счет повышения внутриклеточного содержания циклического аденозинмонофосфата.

Простагландины, в частности алпростадил (простагландин E<sub>1</sub>), обладают мощным вазодилатирующим действием и способностью стимулировать ангиогенез, однако их клиническое применение ограничено выраженными побочными эффектами и необходимостью внутривенного введения [82].

Противоинфекционная терапия и локальная санация раневых дефектов Системная антибактериальная терапия должна базироваться на результатах микробиологического исследования с определением чувствительности возбудителей к антимикробным препаратам. При эмпирической терапии предпочтение отдается антибиотикам широкого спектра действия, эффективным в отношении грамположительной и грамотрицательной флоры, включая анаэробные микроорганизмы. Продолжительность антибактериальной терапии определяется клинической картиной и динамикой воспалительных маркеров.

Локальная антисептическая обработка раневых поверхностей осуществляется с использованием современных антисептических средств с доказанной эффективностью и минимальной цитотоксичностью. Повидон-йод обеспечивает широкий спектр антимикробного действия, включая бактерии, вирусы, грибы и простейшие. Хлоргексидин характеризуется пролонгированным действием и низкой системной токсичностью. Серебросодержащие повязки демонстрируют высокую антимикробную активность в отношении полирезистентных штаммов микроорганизмов [83].

Современные раневые покрытия - альгинаты, гидроколлоиды, гидрогели - обеспечивают оптимальную влажную среду для заживления, абсорбцию экссудата и создание барьера для внешней контаминации [84].

### *Хирургическая санация и детоксикация раневых дефектов*

Некрэктомия представляет критически важный компонент комплексного лечения, направленный на элиминацию девитализированных тканей, микробных биопленок и воспалительного детрита. Радикальная хирургическая обработка создает оптимальные условия для репаративных процессов и повышает эффективность местной терапии. Альтернативные методы - ультразвуковая кавитация и гидрохирургическая обработка - позволяют минимизировать травматизацию здоровых тканей при сохранении высокой эффективности санации.

Вакуум-ассистированная терапия (VAC-терапия) или Negative Pressure Wound Therapy – (NPWT) представляет революционный подход к лечению сложных раневых дефектов, основанный на применении контролируемого отрицательного давления. Механизм действия включает удаление избыточного экссудата и интерстициальной жидкости, улучшение микроциркуляции за счет механической стимуляции ангиогенеза, снижение бактериальной обсемененности и стимуляцию пролиферации грануляционной ткани. Клинические исследования демонстрируют сокращение сроков заживления на 30-50% по сравнению со стандартными методами лечения [85].

Гипербарическая оксигенация основана на повышении парциального давления кислорода в тканях до супрафизиологических значений (1000-2000 мм рт.ст.), что стимулирует неоангиогенез, усиливает фибробластическую активность и оказывает бактерицидное действие в отношении анаэробных микроорганизмов. Терапевтическая эффективность особенно выражена при лечении ишемических ран с сопутствующей анаэробной инфекцией, однако высокая стоимость процедуры и наличие противопоказаний ограничивают широкое клиническое применение данного метода [86].

Хирургические методы лечения.

Рентгенэндоваскулярная реваскуляризация как золотой стандарт восстановления магистрального кровотока:

Чрескожная транслюминальная ангиопластика со стентированием представляет собой высокотехнологичный минимально инвазивный метод эндоваскулярной реконструкции, направленный на восстановление анатомической и функциональной проходимости стенозированных или окклюзированных артериальных сегментов [87, 169, 187]. Данная технология базируется на принципах контролируемой механической дилатации атеросклеротических поражений с последующей имплантацией интраваскулярных эндопротезов для долгосрочного поддержания достигнутого просвета сосуда.

Баллонная дилатация инициирует контролируемую диссекцию атеросклеротической бляшки с компрессией липидного ядра и растяжением сосудистой стенки. Данный процесс сопровождается частичной или полной реканализацией окклюзированного сегмента с восстановлением антеградного кровотока. Имплантация саморасширяющихся или баллон-расширяемых стентов обеспечивает механическую поддержку сосудистой стенки, предотвращая эластическую отдачу (elastic recoil) и острое закрытие артерии. Современные стент-системы характеризуются оптимизированной радиальной

силой, высокой флексибильностью и биосовместимостью. Drug-eluting стенты (стенты с лекарственным покрытием) содержат антипролиферативные агенты - сиролимус, паклитаксел или эверолимус, которые ингибируют пролиферацию гладкомышечных клеток и снижают риск рестеноза [88].

Успешная эндоваскулярная реваскуляризация приводит к улучшению регионального кровотока с восстановлением лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) до нормальных или субнормальных значений ( $>0,9$ ). Транскутанное парциальное давление кислорода ( $TcPO_2$ ) увеличивается с критических значений ( $<30$  мм рт.ст.) до терапевтического уровня ( $>40-50$  мм рт.ст.), что создает благоприятные условия для заживления раневых дефектов.

Клинические исследования демонстрируют высокую техническую успешность процедуры (85–95% случаев) со значительным улучшением качества жизни пациентов. Сохранение конечности достигается в 80–90% случаев при условии успешной реваскуляризации, что существенно превосходит результаты консервативной терапии.

Ограничения и осложнения эндоваскулярного лечения. Несмотря на высокую эффективность, рентгенэндоваскулярные вмешательства ассоциированы с рядом потенциальных осложнений и ограничений. Рестеноз остается основной проблемой долгосрочной проходимости, развиваясь в 20–40% случаев в течение первого года после вмешательства. Патогенетические механизмы рестеноза включают неоинтимальную гиперплазию, обусловленную пролиферацией и миграцией гладкомышечных клеток, а также ремоделирование сосудистой стенки.

Острый тромбоз стента представляет жизнеугрожающее осложнение, частота которого составляет 1–3% при условии адекватной двойной антиагрегантной терапии. Факторами риска тромботических осложнений являются малый диаметр сосуда, протяженное поражение, остаточная диссекция и неадекватная антикоагулянтная терапия.

Эмболические осложнения могут развиваться вследствие фрагментации атероматозных масс во время баллонной дилатации, что требует применения церебральных протекционных устройств при вмешательствах на каротидных артериях и дистальной защиты при манипуляциях на подколенно-берцовом сегменте.

Оптимальная антитромботическая терапия является критическим фактором успеха эндоваскулярного лечения. Двойная антиагрегантная терапия (аспирин 75–100 мг/сут + клопидогрель 75 мг/сут или тикагрелор 90 мг дважды в сутки) должна назначаться минимум на 12 месяцев после имплантации стента. При высоком риске тромботических осложнений может потребоваться тройная антитромботическая терапия с добавлением пероральных антикоагулянтов.

Интрапроцедурная антикоагуляция нефракционированным гепарином (70-100 ЕД/кг) или бивалирудином обеспечивает профилактику тромбообразования во время вмешательства. Применение ингибиторов гликопротеиновых IIb/IIIa рецепторов (абциксимаб, тирофибан) резервируется для случаев высокого тромботического риска или развития интрапроцедурных тромботических осложнений.

Открытая хирургическая реваскуляризация: фундаментальный подход к восстановлению магистрального кровотока.

Артериальное шунтирование представляет собой классическую хирургическую технику прямой реваскуляризации, основанную на создании альтернативного кондуита для восстановления дистального кровотока в обход окклюзированного или критически стенозированного артериального сегмента. Данный метод остается золотым стандартом хирургического лечения при протяженных многоуровневых поражениях, неэффективности эндоваскулярных вмешательств и критической ишемии конечностей с угрозой ампутации.

Успех артериального шунтирования базируется на законах гемодинамики и создании адекватного градиента давления между проксимальным и дистальным анастомозами. Формирование нового сосудистого русла обеспечивает восстановление физиологического кровотока с нормализацией тканевой перфузии и ликвидацией критической ишемии. Ключевым фактором долгосрочной проходимости является соответствие диаметра кондуита гемодинамическим потребностям дистального сосудистого русла [89].

Большая подкожная вена (*vena saphena magna*) остается наиболее предпочтительным кондуитом для инфраингвинальных реконструкций благодаря оптимальным биологическим характеристикам: эндотелиальная выстилка обеспечивает антитромбогенные свойства, эластичность венозной стенки соответствует гемодинамическим нагрузкам, а диаметр вены (4-6 мм) оптимален для большинства дистальных анастомозов [90].

При недоступности аутовенозного материала применяются синтетические протезы - политетрафторэтилен (PTFE) или полиэтилентерефталат (Dacron). Современные протезы характеризуются оптимизированной пористостью, антибактериальным покрытием и гепаринизированной внутренней поверхностью для снижения тромбогенности. Однако долгосрочная проходимость синтетических кондуитов в дистальных позициях остается существенно ниже по сравнению с аутовенозными трансплантатами [91].

Открытая хирургическая реваскуляризация демонстрирует высокую эффективность в сохранении конечности и улучшении качества жизни пациентов. Первичная проходимость аутовенозных шунтов составляет 80–85% в течение 5 лет для аорто-бедренных реконструкций и 60-70% для бедренно-подколенных шунтов. Вторичная проходимость после ревизионных вмешательств достигает 85–90%.

Клиническое улучшение наблюдается у 90–95% пациентов с исчезновением болей покоя и заживлением трофических нарушений. Сохранение конечности достигается в 85–90% случаев при условии адекватного дистального русла и отсутствия критической инфекции.

Однако открытая хирургическая реваскуляризация характеризуется более высокой инвазивностью по сравнению с эндоваскулярными методами. Общая анестезия и протяженная хирургическая травма увеличивают риск кардиопульмональных осложнений, особенно у пациентов с сопутствующей патологией. Периоперационная летальность составляет 2–5% в зависимости от объема вмешательства и состояния пациента [92].

Так же характерны специфические осложнения, которые включают кровотечение, инфекцию протеза, лимфатические свищи и нейропатию. Инфекция протеза является наиболее грозным осложнением с летальностью 10–15% и требует удаления инфицированного трансплантата с экстраанатомической реконструкцией. Длительность госпитализации составляет 7–14 дней в зависимости от сложности вмешательства и наличия осложнений. Полная реабилитация требует 4–6 недель с постепенным увеличением физической активности. Пожизненная антиагрегантная терапия является обязательным компонентом послеоперационного ведения для профилактики тромботических осложнений.

Следовательно, выбор между открытой и эндоваскулярной реваскуляризацией определяется анатомическими характеристиками поражения, общим состоянием пациента и доступностью технологий. Концепция "endovascular first" предполагает первоочередное рассмотрение эндоваскулярных методов с резервированием открытой хирургии для случаев технической невозможности или неэффективности чрескожных вмешательств.

### **1.3 Рентгенэндоваскулярная реваскуляризация в лечении хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей**

Рентгенэндоваскулярная реваскуляризация представляет собой одно из наиболее значимых достижений современной сосудистой медицины, кардинально изменившее парадигму лечения пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Данный метод стал настоящим прорывом в терапии критической ишемии конечности, предоставив клиницистам эффективный и малоинвазивный инструмент восстановления артериального кровотока при минимальном операционном риске для пациента [93, 94].

Революционный характер эндоваскулярных технологий заключается в их способности обеспечить адекватную реваскуляризацию пораженных артериальных сегментов без необходимости выполнения обширных открытых хирургических вмешательств. Это особенно важно для категории пациентов с критической ишемией конечности, часто отягощенных множественной сопутствующей патологией и высоким анестезиологическим риском, для которых традиционные реконструктивные операции могут быть противопоказаны или сопряжены с неоправданно высоким риском осложнений [95, 96].

Становление эндоваскулярной хирургии как самостоятельного направления связано с фундаментальными работами выдающихся исследователей, заложивших основы современных интервенционных технологий.

Пионерский период (1964 год) ознаменовался революционной работой Charles Dotter, который впервые в истории медицины выполнил транслюминальную ангиопластику у человека. Его инновационный подход заключался в использовании системы коаксиальных катетеров возрастающего диаметра для механического расширения стенозированного участка бедренной артерии. Несмотря на техническое несовершенство первых попыток, работа Dotter

заложила концептуальные основы эндоваскулярного лечения окклюзионно-стенотических поражений артерий и открыла новую эру в сосудистой медицине [97, 98].

Историческое значение этого достижения трудно переоценить, поскольку впервые была продемонстрирована принципиальная возможность восстановления проходимости пораженных артерий без открытого хирургического доступа. Методология Dotter, получившая название "dottering", стала отправной точкой для последующего развития всех эндоваскулярных технологий [97].

Период технологического совершенствования (1970-е годы) характеризовался фундаментальными инновациями Andreas Gruentzig, который разработал принципиально новую концепцию баллонной ангиопластики. Его гениальное изобретение - баллонный катетер с контролируемым расширением - позволило достичь прецизионного и предсказуемого воздействия на стенозированные артериальные сегменты.

Техническое совершенство баллонных систем Gruentzig заключалось в возможности точного дозирования расширяющего воздействия, что значительно повысило безопасность процедур и улучшило непосредственные результаты лечения. Разработанная им методика чрескожной транслюминальной ангиопластики стала золотым стандартом эндоваскулярного лечения и сохраняет свою актуальность в современной практике [99, 100].

Эра имплантируемых устройств (1980-е годы - настоящее время) ознаменовалась революционным внедрением внутрисосудистых стентов, кардинально изменивших долгосрочные результаты эндоваскулярной реваскуляризации. Пионерские работы Julio Palmaz по разработке саморасширяющихся металлических каркасов открыли новые горизонты в лечении сложных окклюзионно-стенотических поражений [101].

Концепция стентирования основана на механическом поддержании достигнутого в результате ангиопластики просвета сосуда, что позволяет преодолеть основные ограничения изолированной баллонной дилатации: эластическое сокращение артериальной стенки и раннее рестенозирование. Внутрисосудистые стенты обеспечивают долгосрочное поддержание адекватного артериального просвета и значительно улучшают отдаленные результаты реваскуляризации [102, 103].

Современные стент-системы представляют собой высокотехнологичные устройства, изготовленные из биосовместимых материалов с оптимизированной геометрией ячеистой структуры, обеспечивающей максимальную радиальную силу при минимальном профиле доставки. Развитие технологий покрытий стентов лекарственными препаратами открыло дополнительные возможности профилактики рестеноза за счет локального антипролиферативного воздействия [104, 105].

Эволюция эндоваскулярных технологий продолжается в направлении создания биорезорбируемых стентов, устройств с программируемыми характеристиками деградации и персонализированных имплантатов, адаптированных к индивидуальным анатомическим особенностям пациентов.

Современные исследования сосредоточены на разработке "умных" стентов с возможностью мониторинга функционального состояния и адаптивного реагирования на изменения гемодинамических условий.

Интеграция искусственного интеллекта и робототехники в эндоваскулярную хирургию открывает перспективы создания полностью автоматизированных систем планирования и выполнения интервенционных процедур с максимальной точностью и минимальным риском осложнений. Развитие технологий визуализации, включая intravascular optical coherence tomography и внутрисосудистое ультразвуковое исследование, обеспечивает беспрецедентную детализацию морфологии сосудистых поражений и оптимизацию тактики лечения [106, 107].

К современным разработкам относятся:

Стент-графты - используются для лечения аневризм и разрывов артерий.

Лекарственные стенты (DES) – покрыты лекарственными препаратами, которые предотвращают рестеноз (повторное сужение сосуда) [108, 109];

Баллоны с лекарственным покрытием (DCB) - высвобождают препарат в стенку сосуда во время ангиопластики, уменьшая риск рестеноза [110];

Атерозктомия - механическое удаление атеросклеротических бляшек с помощью специальных устройств [111]. Улучшенная навигация: Развитие навигационных систем и проводников позволило проводить реваскуляризацию в более сложных случаях, включая поражения дистальных артерий голени и стопы [112].

Таким образом, рентгенэндоваскулярная реваскуляризация в современной клинической практике представляет собой фундаментальный прорыв в лечении пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей, особенно при критической ишемии конечности. Данная технология кардинально изменила парадигму сосудистой хирургии, предоставив клиницистам эффективный, безопасный и малоинвазивный инструмент восстановления артериального кровотока с минимальным операционным риском для пациента [113, 114].

Превосходство эндоваскулярного подхода заключается в уникальном сочетании высокой клинической эффективности с минимальной инвазивностью процедур. Технические достижения последних десятилетий позволили достичь показателей технического успеха, сопоставимых с результатами открытых реконструктивных операций, при существенном снижении периоперационной заболеваемости и смертности. Это особенно важно для категории пациентов с критической ишемией конечности, часто отягощенных множественной сопутствующей патологией и высоким анестезиологическим риском [115, 116].

Революционное развитие эндоваскулярных технологий демонстрирует впечатляющую динамику инновационного прогресса. Внедрение лекарственных стентов нового поколения с оптимизированными полимерными покрытиями и контролируемым высвобождением антипролиферативных препаратов значительно улучшило показатели долгосрочной проходимости реваскуляризованных сегментов. Современные системы элюирования лекарственных веществ обеспечивают эффективную локальную концентрацию активных компонентов при минимальной системной экспозиции, что

существенно снижает риск рестеноза без увеличения системных побочных эффектов [117, 118].

Баллоны с лекарственным покрытием представляют собой инновационную концепцию сочетания механического расширения сосуда с локальной фармакотерапией, обеспечивающую эффективную профилактику рестеноза без необходимости имплантации постоянного инородного тела. Данная технология особенно эффективна при лечении поражений дистальных артериальных сегментов и рестенозов после предшествующих вмешательств, где традиционные методы демонстрируют ограниченную эффективность [119, 120].

Современные атерэктомические устройства расширили возможности эндоваскулярного лечения кальцинированных поражений, ранее считавшихся оптимальными кандидатами для открытого хирургического лечения. Прецизионное удаление атеросклеротических масс с помощью ротационных, направленных и орбитальных систем обеспечивает восстановление просвета артерии при минимальном риске осложнений и создает оптимальные условия для последующей ангиопластики или стентирования [121, 122].

Критически важным фактором успеха эндоваскулярной реваскуляризации является тщательный отбор пациентов с комплексной оценкой анатомических, гемодинамических и клинических характеристик. Современные алгоритмы предоперационного планирования включают детальную оценку морфологии поражения с использованием мультиспиральной компьютерной томографии, магнитно-резонансной ангиографии и внутрисосудистых методов визуализации, что позволяет оптимизировать выбор технической стратегии и прогнозировать результаты лечения [123, 124].

Использование современного высокотехнологичного оборудования является неотъемлемым условием обеспечения высокого качества и безопасности эндоваскулярных процедур [125]. Передовые ангиографические системы с цифровой субтракцией, роботизированными системами навигации и интеграцией с системами внутрисосудистой визуализации обеспечивают прецизионность манипуляций и минимизацию лучевой нагрузки на пациента и медицинский персонал [126].

Накопленная доказательная база убедительно демонстрирует, что рентгенэндоваскулярная реваскуляризация должна рассматриваться как метод первого выбора для подавляющего большинства пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей [127]. Особенно важным это положение является для пациентов с факторами риска открытого хирургического лечения, включающими пожилой возраст, тяжелую сопутствующую патологию, предшествующие оперативные вмешательства и неблагоприятную анатомию для реконструктивных операций [128, 129].

Стратегическое позиционирование эндоваскулярного подхода как метода первой линии терапии основывается не только на превосходных показателях безопасности, но и на возможности повторных вмешательств при развитии рестеноза или прогрессировании заболевания. Концепция эндоваскулярного лечения как "моста" к открытой хирургии в случае неудачи первичного вмешательства обеспечивает оптимальную стратегию сохранения конечности

при минимальном кумулятивном риске для пациента [130, 131].

Перспективы дальнейшего развития эндоваскулярных технологий связаны с интеграцией искусственного интеллекта для планирования процедур и прогнозирования результатов, разработкой биорезорбируемых стентов и персонализированных лекарственных покрытий, а также созданием роботизированных систем выполнения процедур с максимальной точностью и воспроизводимостью результатов [132].

Рентгенэндоваскулярная реваскуляризация представляет собой воплощение современной концепции персонализированной медицины, обеспечивающей оптимальные результаты лечения при минимальном риске для пациента. Продолжающееся технологическое развитие и накопление клинического опыта гарантируют дальнейшее совершенствование данного направления и расширение возможностей эндоваскулярного лечения сложных форм периферического атеросклероза.

#### **1.4 Фибробласты и их роль в репарации тканей**

Клеточная терапия представляет собой инновационное направление регенеративной медицины, открывающее новые горизонты в лечении раневых поверхностей при хронической и критической ишемии конечностей. Данный подход основан на использовании биологического потенциала различных типов клеток для восстановления поврежденных тканей и стимуляции естественных процессов заживления [133, 134].

Применение фибробластов в клеточной терапии базируется на фундаментальной роли этих клеток в процессах репарации. Фибробласты являются ключевыми участниками синтеза коллагена, эластина и других компонентов внеклеточного матрикса, обеспечивая структурную основу для формирования полноценной соединительной ткани [135, 136, 172]. При трансплантации аутологичных или аллогенных фибробластов в зону кожного дефекта происходит активация локальных процессов неоангиогенеза и ускорение эпителизации раневой поверхности [137, 179].

Механизм терапевтического воздействия клеточной терапии реализуется через несколько ключевых направлений: непосредственное участие трансплантированных клеток в процессах репарации, паракринную и экскреторную секрецию биологически активных веществ клетками, стимулирующих местные регенеративные процессы, и модуляцию локального воспалительного ответа с переключением его в противовоспалительный фенотип [135].

Методика применения клеточной терапии предполагает предварительную подготовку клеточного материала с обязательным контролем жизнеспособности, стерильности и фенотипических характеристик клеток [136]. Введение клеточной суспензии осуществляется непосредственно в область язвенного дефекта и окружающие ткани с использованием различных техник: аэрозольный способ, инъекционного введения, аппликационного нанесения в составе биodeградируемых носителей или комбинированного применения с современными раневыми покрытиями [138].

Полученные нами клинические результаты применения клеточной терапии демонстрируют обнадеживающую динамику заживления длительно незаживающих ран. Отмечается сокращение сроков эпителизации, уменьшение площади грубой рубцовой ткани, снижение болевого синдрома и повышение качества жизни пациентов [139]. Особенно перспективными представляются результаты комбинированного применения различных типов клеток с синергетическим потенцированием терапевтического эффекта [135].

Вместе с тем широкое клиническое применение клеточной терапии сдерживается рядом существенных ограничений. Основными препятствиями являются необходимость разработки и внедрения стандартизированных протоколов получения, культивирования и применения клеточных продуктов, обеспечение надлежащего контроля качества и безопасности клеточных препаратов, а также значительная стоимость процедур, связанная со сложностью технологических процессов и требованиями к специализированному оборудованию [134].

Дальнейшее развитие клеточной терапии в лечении ишемических язвенных поражений требует проведения масштабных рандомизированных контролируемых исследований для определения оптимальных протоколов лечения, изучения долгосрочной безопасности методов и разработки персонализированных подходов с учетом индивидуальных характеристик пациентов и особенностей патологического процесса.

В литературе ряд авторов описывают перспективное направление в лечении длительно незаживающих ран - использование биотехнологий [140, 186].

В качестве биологических технологий используется живой эквивалент кожи, объединяющий живые клеточные элементы с биоматериалом, состоящего из геля с фибробластами, выращенными на его поверхности эпидермальными кераноцитами [141]. Фибробласты принимают участие в синтезе компонентов межклеточного матрикса, в организации местных защитных реакций, в формировании грануляционной ткани в пролиферативной фазе физиологической и репаративной регенерации [180]. Также в ряде работ описана важная роль фибробластов в патогенезе воспаления, а также в процессе заживления повреждений тканей, при онкологических и сердечно-сосудистых заболеваниях. Так же следует отметить основные функции фибробластов в организме человека: эпителизация и заживление повреждений на коже за счет активизации кератиноцитов, синтез коллагена, эластина и гиалуроновой кислоты [140].

Фибробласты – это ключевые клетки соединительной ткани, играющие центральную роль в процессах репарации и регенерации тканей. Они отвечают за синтез внеклеточного матрикса (ВКМ), который обеспечивает структурную поддержку и биохимическую среду для окружающих клеток [136]. Благодаря своим уникальным биологическим свойствам фибробласты широко используются в регенеративной медицине для восстановления поврежденных тканей и органов.

Биологические свойства фибробластов: Фибробласты происходят из мезенхимальных стволовых клеток (МСК), которые, в свою очередь, происходят

из мезодермы [140]. Дифференцировка МСК в фибробласты регулируется различными факторами роста, такими как TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor-beta), PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) и FGF (Fibroblast Growth Factor) [142].

Основная функция фибробластов – синтез ВКМ, который состоит из коллагенов, эластина, протеогликанов и гликопротеинов. Коллаген является наиболее распространенным белком в ВКМ и обеспечивает прочность и структурную поддержку тканей [143].

Некоторые фибробласты, называемые миофибробластами, обладают сократительной активностью благодаря наличию актина и миозина. Миофибробласты играют важную роль в заживлении ран, способствуя сокращению раневой поверхности [144].

Фибробласты секретируют различные факторы роста и цитокины, которые стимулируют пролиферацию, миграцию и дифференцировку других клеток, участвующих в репарации тканей для дальнейшей эпителизации ран [145].

Фибробласты чувствительны к механическим и химическим стимулам и могут изменять свою активность в ответ на изменение натяжения и деформации ВКМ. Это позволяет им адаптироваться к изменяющимся условиям в процессе заживления ран [146].

Фибробласты секретируют VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), который является мощным стимулятором ангиогенеза. VEGF связывается с рецепторами на эндотелиальных клетках и стимулирует их пролиферацию, миграцию и формирование новых кровеносных сосудов [147].

Фибробласты также секретируют другие ангиогенные факторы, такие как FGF-2 (Fibroblast Growth Factor-2) и PDGF, которые способствуют ангиогенезу [142].

Фибробласты синтезируют различные типы коллагена, включая коллаген I, III и V типов, которые являются основными компонентами ВКМ [148]. Синтез коллагена регулируется различными факторами, такими как TGF- $\beta$ , PDGF и инсулин, также регулируют активность матриксных металлопротеиназ (ММП), которые расщепляют коллаген и другие компоненты ВКМ. Баланс между синтезом коллагена и его деградацией ММП имеет решающее значение для нормального заживления ран. Фибробласты секретируют факторы роста, такие как KGF (Keratinocyte Growth Factor) и EGF (Epidermal Growth Factor), которые стимулируют пролиферацию и миграцию кератиноцитов – основных клеток эпидермиса, так же они формируют временный ВКМ, который служит основой для миграции кератиноцитов и закрытия раневой поверхности [149].

Культивируемые аутологичные фибробласты применяются в лечении хронических ран (язвы голени, диабетические язвы стопы), ожогов, рубцов [150].

Введение культивируемых аутологичных фибробластов в область раны стимулирует синтез ВКМ, ангиогенез и эпителизацию, что способствует заживлению раны. Например - препарат Dermagraft, представляющий собой культивируемые фибробласты, выращенные на биоразлагаемом матриксе, используется для лечения диабетических язв стопы [151].

Аллогенные фибробласты так же используются при лечении ожогов, рубцов, а также в косметической хирургии для улучшения состояния кожи, они стимулируют репаративные процессы в тканях и улучшают структуру ВКМ. Препарат Apligraf, представляющий собой культивированные аллогенные фибробласты и кератиноциты, используется для лечения венозных язв голени и диабетических язв стопы [152].

Инъекции фибробластов для омоложения кожи широко используется в косметологии с целью улучшение текстуры кожи, уменьшение морщин, повышение упругости и эластичности кожи [153].

Таким образом фибробласты играют важную роль в репарации и регенерации тканей, синтезируя ВКМ, секретируя факторы роста и обладают сократительной активностью, данные биологические свойства фибробластов широко используются в регенеративной медицине для лечения хронических ран, ожогов, рубцов и других заболеваний. Развитие новых технологий, таких как культивирование фибробластов на трехмерных матрицах и генная инженерия, открывает новые перспективы для использования фибробластов в регенеративной медицине.

Использование аутологичных фибробластов, полученных из биоптатов кожи пациента, минимизирует риск иммунного отторжения и обеспечивает лучшую интеграцию с тканями реципиента. Развиваются протоколы получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) из фибробластов с последующей их дифференцировкой в специализированные клеточные типы.

Наиболее эффективными оказываются комплексные стратегии, сочетающие клеточную терапию с доставкой биоактивных молекул через микроносители, использованием плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP), и физиотерапевтическими методами стимуляции регенерации [154].

Ключевыми задачами остаются контроль фиброобразования, обеспечение долгосрочной жизнеспособности трансплантированных клеток и стандартизация протоколов производства клеточных продуктов для клинического применения.

Таким образом, развитие методов неинвазивного мониторинга приживления и функциональной активности фибробластов станет важным шагом для оптимизации терапевтических протоколов.

#### *Заключение:*

Лечение длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей представляет собой одну из наиболее сложных и многоаспектных проблем современной ангиологии и сосудистой хирургии. Успешное решение данной задачи требует реализации комплексного мультидисциплинарного подхода, учитывающего патофизиологические особенности ишемического процесса, индивидуальные характеристики пациента и современные возможности терапевтического воздействия. Стратегия лечения должна базироваться на тщательном анализе множественных факторов, определяющих прогноз заживления и выбор оптимальной терапевтической тактики. Степень критической ишемии конечности, оцениваемая по комплексу гемодинамических показателей и клинических критериев, является определяющим фактором в принятии решения о необходимости и объеме

реваскуляризирующих вмешательств. Наличие и характер инфекционного процесса в области язвенного дефекта требует дифференцированного подхода к выбору антимикробной терапии и методов санации раневой поверхности. Морфометрические характеристики язвенного поражения, включающие площадь, глубину распространения и локализацию дефекта, определяют возможности применения различных методов местного лечения и прогнозирование сроков заживления. Особое значение приобретает оценка состояния окружающих тканей, наличие некротических изменений и степень воспалительной реакции, что влияет на выбор хирургической тактики и необходимость этапного лечения. Общее состояние пациента, включая наличие сопутствующих заболеваний, степень компенсации сахарного диабета, функциональное состояние сердечно-сосудистой системы и нутритивный статус, существенно влияет на репаративные возможности организма и определяет необходимость коррекции системных нарушений как неотъемлемой части комплексного лечения.

Фундаментальным принципом успешного лечения длительно незаживающих язв при критической ишемии является обязательное восстановление адекватного кровоснабжения пораженной конечности. Реваскуляризация, осуществляемая методами эндоваскулярной хирургии или открытых реконструктивных вмешательств, создает необходимые условия для активации естественных процессов репарации и обеспечивает эффективность последующего консервативного лечения.

Современные эндоваскулярные технологии, включающие баллонную ангиопластику, стентирование и специализированные методы реканализации окклюзированных сегментов, обеспечивают минимально инвазивное восстановление проходимости артериального русла с низким операционным риском.

Консервативные методы лечения играют ключевую роль в подготовке раневой поверхности к заживлению и создании оптимальных условий для регенеративных процессов.

Стимуляция регенеративных процессов достигается через применение биологически активных субстанций, факторов роста и современных биотехнологических препаратов, способствующих активации ангиогенеза, пролиферации фибробластов и ускорению эпителизации.

Инновационные направления лечения, представленные клеточной терапией, открывают качественно новые возможности воздействия на молекулярные механизмы репарации. Клеточная терапия с использованием аллогенных фибробластов демонстрирует значительный потенциал в стимуляции неоангиогенеза и тканевой регенерации, что подтверждается обнадеживающими результатами пилотных клинических исследований.

Вместе с тем широкое клиническое внедрение инновационных методов лечения требует проведения масштабных рандомизированных контролируемых исследований для окончательного определения их эффективности и безопасности.

Интеграция традиционных методов лечения с инновационными биотехнологическими подходами позволит достичь качественно нового уровня терапевтической эффективности и улучшить долгосрочные результаты лечения этой сложной категории пациентов.

## **2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1 Общая характеристика исследования**

Работа выполнена на базе ТОО «Национальный научный онкологический центр» г.Астана.

В 2024 году данная работа подавалась для участия в конкурсе на грантовое финансирование по научным и (или) научно-техническим проектам на 2024-2026 годы (Министерство науки и высшего образования Республики Казахстан). Заявка № AP23485580 - Инновационные технологии клеточной терапии в лечении длительно незаживающих язв нижних конечностей. Отклонена ННС [189].

В соответствии с целями и задачами диссертационной работы разработан дизайн исследования, определяющий выбор материалов и методов исследования. Научно-исследовательская работа одобрена Биоэтической комиссией Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова (протокол № 10 от 28.12.2022г.).

Перед включением в исследование и после разъяснения процедур каждым участником подписывалось письменное информированное согласие на участие в исследовании.

**Дизайн исследования:** рандомизированное контролируемое исследование;

В процессе выполнения исследования авторы прибегли к международным рекомендациям «Повышения качества и прозрачности исследований в области здравоохранения» с использованием чек-листа CONSORT.

**Рандомизация** пациентов проведена при помощи онлайн генератора случайных чисел RandStuff (номер стационарной карты в КМИС - соответствует номеру пациента).

**Исследовательский вопрос по структуре PICO(T) (Patient-популяция, Intervention-вмешательство, Comparison-сравнение, Outcome-исход, Time-время):**

**Р** - пациенты с длительно незаживающими ранами на фоне хронического облитерирующего заболевания артерий нижних конечностей

**I** – оперативное вмешательство (эндоваскулярная реваскуляризация + трансплантация аллогенных фибробластов на длительно незаживающих ранах)

**C** – оперативное вмешательство (эндоваскулярная реваскуляризация + традиционная хирургическая обработка ран)

**O** – заживление ран

**T** – 2022-2025гг.

Объектом настоящего исследования явились 116 пациентов с длительно незаживающими ранами, обусловленными хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей. Все пациенты были распределены на две группы в зависимости от применяемого метода лечения:

Основная группа — 58 пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей и длительно незаживающими ранами, которым была выполнена рентгенэндоваскулярная реваскуляризация в сочетании с местным применением аллогенных фибробластов.

Контрольная группа — 58 пациентов, которым также была проведена рентгенэндоваскулярная реваскуляризация, однако в послеоперационном периоде использовались традиционные методы хирургической обработки.

Все операции проведены в рамках гарантированного объёма бесплатной медицинской помощи (ГОБМП) и обязательного социального медицинского страхования (ОСМС).

Объем выборки пациентов высчитан в компьютерной программе – Epi Info™ StatCalc версия 7.2.5 от ноября 2021г. следующим образом:

Двусторонний уровень достоверности - 95%

Мощность - 80%

Соотношение групп (основная : контрольная) - 1:1

% исхода в основной группе - 50%

Коэффициент риска - 0,5

Отношение шансов - 0,3333

% исхода в контрольной группе - 25%

Все пациенты отобраны согласно критериям включения, исключения и по показаниям соответствующим клиническому протоколу РПП на ПХВ «Республиканский центр развития здравоохранения» Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от «30» ноября 2015года  
Протокол № 18

#### **Критерии включения:**

1. Пациенты мужского и женского пола в возрасте 18–85 лет включительно.
2. Пациенты с диагнозом ЗПА (код I70.2 - I70.9 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра [МКБ-10]), подтверждённым результатами ультразвукового дуплексного сканирования сосудов.
3. Пациенты с наличием длительно незаживающей раной (более 1 месяца) и перемежающейся хромоты с дистанцией безболевой ходьбы менее 200 метров.

#### **Критерии исключения:**

1. Острый инфаркт миокарда (ОКС), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК-инсульт), тромбоэмболия легочных артерий (ТЭЛА)
2. Острые инфекционные заболевания

3. Пациенты, которым проводилось реконструктивное вмешательство на артериях нижних конечностей (хирургическое или внутрисосудистое) в последние 3 месяца до рандомизации.
4. Пациенты с наличием в анамнезе гиперчувствительности или аллергии на рентгенконтрастное вещество, аналогичные препараты или вспомогательные вещества. Отягощенный аллергоанамнез на реагенты и реактивы используемые во время лечения
5. Беременные или кормящие грудью пациентки, или женщины, планирующие забеременеть до участия в этом исследовании или в течение исследования, либо намеревающиеся стать донором яйцеклетки в течение этого же периода времени.
6. Наличие язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК)
7. Наличие в анамнезе доброкачественных или злокачественных образований.

### **Критерии отмены оперативного вмешательства или досрочного выбывания участника из исследования**

1. Существенное отклонение от требований исследования.
2. Выявление после рандомизации несоответствия участника критериям отбора или несоблюдение требований исследования, при котором продолжение участия представляет собой неприемлемый риск для здоровья участника.
3. Потеря участника для последующего наблюдения. Участник не вернулся в клинику, и попытки связаться с ним были безуспешны. Попытки установить контакт с участником должны были быть зарегистрированы в его первичной документации.
4. Выбывание по желанию участника. Участник (или его/ее законный представитель) желает прекратить участие в исследовании. Причину выбывания (если она была предоставлена) следует зарегистрировать и отразить в первичной документации.
5. Прекращение исследования. Этический комитет или регуляторный орган, прекращает проведение исследования.
6. Прогрессирование основного и сопутствующего заболевания
7. Прочее.

В ходе исследования случаев досрочного выбывания участников не зарегистрировано.

### **Критерии эффективности:**

1. Успешные реваскуляризации пораженных сосудов (восстановление кровотока по стенозированным или окклюзированным сосудам)
2. Быстрое заживление ран после комбинированного метода лечения с использованием аллогенных фибробластов (до 6 месяцев)

## **2.2 Методы исследования**

Распределение пациентов по клиническим формам заболевания, проводилось согласно «Системе классификации WIFI Общества сосудистых

хирургов с угрозой поражения конечностей, основанная на комплексном анализе трёх ключевых прогностических компонентов: характеристики раневого дефекта (W), степени ишемии (I) и выраженности инфекционного процесса (FI), а также по локализации поражения артериального русла.

Для оценки интенсивности боли использовалась «Визуальная аналоговая шкала боли» (рисунок 1), рекомендуемая и представленная в 2017 году Международной ассоциацией по изучению боли в журнале PAIN группой авторов: Gélinas C, Puntillo KA, Levin P, et al: The Behavior Pain Assessment Tool for critically ill adults: A validation study in 28 countries. Pain 2017; 158:811–821.

Данная шкала представляет собой горизонтальную линейную разметку длиной 10 см, дополненную шестью зрительными пиктограммами (изображениями лица), отражающими градации выраженности боли.

Пациент самостоятельно устанавливает точку на шкале, соответствующую вспомогательному ощущению боли, после чего исследователь измеряет расстояние (в сантиметрах) от нулевой отметки до точки пациента. Полученное значение интерпретируется в соответствии с приведенной классификацией: 0 баллов – нет нарушений; 1–3 балла – легкая боль (легкие нарушения); 4–6 баллов – умеренная боль (умеренные нарушения); 7–8 баллов – выраженная боль (тяжелые нарушения); 9–10 баллов – невыносимая боль (абсолютные нарушения).



**Рисунок 1.** «Визуальная аналоговая шкала боли»

Для объективной и количественной оценки размеров длительно незаживающих ран выполнялось измерение их площади с применением стандартных методик. Поэтапная последовательность проведения данных измерений представлена на рисунке 2, где продемонстрирован процесс фиксации линейных параметров и расчёт площади раневого дефекта.

Все замеры проводились после предварительной обработки раневой поверхности и обеспечения доступа ко всем ее границам.

Первичное измерение выполняли обычной сантиметровой линейкой, на которой ясно видны деления и цифры (рисунок 2 А, Б). Далее рану покрывали

стерильным, прозрачным медицинским полиэтиленом (*пленка*) используемый в хирургической практике для фиксации повязки при перевязки ран, контуры раны обводились по периметру с фотофиксацией (цифровой фотодокументации) (*рисунок 2 В, Г, Д*), с последующим анализом в специализированном мобильном приложении LesionMeter, которое автоматически высчитывает площадь раны и выдает результат на экране (*рисунок 2 Е*). Объем ран рассчитывался в квадратных сантиметрах.

Использование данных методик позволило отслеживать изменения динамики площади раневого дефекта в различные периоды наблюдения и объективно оценивать эффект заживления.



**Рисунок 2** (*А, Б – измерение сантиметровой линейкой размеров раны, В - использование полиэтиленовой пленки для очертания контуров ран, Г,Д – измерение истинных размеров ран, Е– измерение площади ран в мобильном приложении LesionMeter*)

Все общеклинические методы исследования проводились при поступлении в стационар, так как мониторинг в более частом временном интервале, с учетом результатов предыдущих исследований, не покажет существенный характер изменений изучаемых показателей. Также всем пациентам при поступлении назначалась комплексная терапия, при необходимости проводились малые операции для вскрытия абсцессов и флегмон стопы, некрэктомии, экзартикуляции. Консультации узких специалистов проводились по показаниям.

Основные (обязательные) клиничко-лабораторные диагностические обследования, при госпитализации пациенты проходили амбулаторно по месту

жительства:

Общий анализ крови (ОАК); Общий анализ мочи (ОАМ); биохимический анализ крови (общий билирубин, прямой и непрямой билирубин, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), общий белок, мочевины, креатинин, электролиты, глюкоза крови); повышение уровня общего холестерина, понижение уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), повышение уровня липопротеинов низкой плотности (ЛПНП); коагулограмма (Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), Международное нормализованное отношение (МНО), Фибриноген, протромбиновое время (ПВ), протромбиновый индекс (ПТИ)); группа крови и резус фактор; Электрокардиограмма (ЭКГ); исследование крови на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) методом иммуноферментного анализа (ИФА); ИФА на гепатиты В, С.

### **Инструментальные методы исследования:**

Диагностический метод мультиспиральная компьютерная томография с контрастированием.

Мультиспиральная компьютерная томография с контрастированием (МСКТ) — это метод медицинской диагностики, использующий рентгеновские лучи для создания детальных послойных изображений органов и тканей. При введении йодсодержащего контрастного вещества в просвет сосуда, артерии и вены становятся более видимыми, что помогает выявить уровень и характер поражения сосуда. Дополнительные возможности трехмерной реконструкции (3D-реконструкции) отображают анатомию сосудистого русла и позволяют выбрать оптимальную тактику эндоваскулярного вмешательства. МСКТ с контрастированием превосходит стандартную компьютерную томографию по информативности, так как обеспечивает более точную оценку сосудистой анатомии, структуры и распространённости патологического процесса. Метод широко применяют в клинической практике для диагностики различных сосудистых заболеваний.

### **Метод фиброгастродуоденоскопии (ФГДС)**

ФГДС перед эндоваскулярным вмешательством является методом диагностики для оценки состояния верхних отделов ЖКТ, включая пищевод, желудок и двенадцатиперстную кишку. Это необходимо для исключения либо выявления возможных противопоказаний к реваскуляризирующей операции, например язв или кровотечений. В случае обнаружения таковых пациент направляется к гастроэнтерологу или терапевту на лечение, так как после лечебных эндоваскулярных вмешательств, чаще всего применяются крове разжижающие препараты (антикоагулянты, антиагреганты), которые могут спровоцировать кровотечение с последующими неблагоприятными исходами.

### **Метод ультразвуковой диагностики**

Ультразвуковая доплерография (УЗДГ) играет ключевую роль в современной диагностике патологий сосудов, благодаря своей доступности,

информативности и чувствительности. Это неинвазивный метод, который хорошо переносится пациентами, относительно недорог и широко применяется в амбулаторной практике. В данном исследовании ультразвуковое исследование в динамике проводилось с использованием аппарата SonoScape S6Pro до оперативного лечения и в послеоперационном периоде на 3 сутки, 1, 3, 6, 12 месяцев. Данный метод не позволяет точно определить расположение и распространённость сосудистых поражений как компьютерная томография, но служит важным инструментом для предварительной оценки кровотока.

### **Оценка микроциркуляторных изменений нижних конечностей**

Лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ) — это неинвазивный метод для оценки состояния кровотока в нижних конечностях. Он рассчитывается как отношение систолического артериального давления (АД) на лодыжке к АД на руке (плече). Этот показатель помогает выявить заболевания периферических артерий, оценить степень ишемии и контролировать эффективность лечения, например в послеоперационном периоде. У здорового человека ЛПИ находится в диапазоне от 0,9 до 1,2. Измерение проводится с помощью тонометра и ультразвукового линейного датчика с режимом доплерографии, который регистрирует артериальный кровоток. Проводилось измерение артериального давления на плечевых артериях обеих верхних конечностей, при разных показателях, использовали наибольшее значение. На нижних конечностях измеряли артериальное давление на задних или передних берцовых артериях, также фиксировали наибольший результат. Манжету тонометра накладывали в средней и нижней трети голени. Все показатели регистрировались в базе данных.

### **Измерение транскутанного напряжения кислорода в тканях**

Показатели транскутанного напряжения кислорода в тканях поражённой нижней конечности регистрировались до и после оперативного вмешательства, а также через 1, 3, 6 и 12 месяцев с использованием монитора TCM TOSCA, оснащённого транскутанным датчиком Sensor 92. Данная методика является одной из наиболее распространённых в сосудистой хирургии для оценки степени нарушения микроциркуляции в поражённой конечности. Транскутанное измерение напряжения кислорода позволяет оценить функциональное состояние сосудистой системы, в том числе адекватность коллатерального кровотока, определить выраженность тканевой ишемии, а также обоснованно выбрать между консервативной и оперативной тактикой лечения. В норме уровень напряжения кислорода в тканях составляет 50–60 мм.рт.ст. При снижении этого показателя ниже 20 мм.рт.ст. вероятность заживления ран отсутствует, при показателях 40 мм.рт.ст и более имеется вероятность заживления. Чаще всего измерение выполняли на тыле стопы в области первого межпальцевого промежутка в горизонтальном положении конечности, либо в других участках конечности. Определение транскутанного напряжения кислорода начинали проводить через 15 минут после наложения электрода [190].

### **Физикальное обследование:**

При проведении общего осмотра с учетом анамнеза заболевания, общего

состояния, обращалось внимание на наличие отеков и гиперемии, гипотрофичность мышц нижних конечностей, изменение окраски кожных покровов, выпадение волос нижних конечностей, а также наличие язвенных дефектов и их размеры. Все замеры язвенных дефектов проводились после предварительной обработки раневой поверхности и обеспечения доступа ко всем ее границам.

Первичное измерение выполняли обычной сантиметровой линейкой, на которой ясно видны деления и цифры. Далее рану покрывали стерильным, прозрачным медицинским полиэтиленом (пленка) используемый в хирургической практике для фиксации повязки при перевязках ран, контуры раны обводились по периметру с фотофиксацией (цифровой фотодокументации), с последующим анализом в специализированном мобильном приложении LesionMeter, которое автоматически высчитывает площадь раны и выдает результат

### **При пальпации:**

Определялось отсутствие или снижение пульса на бедренной, подколенной, артериях, передней большеберцовой (ПББА) и задней большеберцовой (ЗББА) артериях, также оценивали снижение либо отсутствие чувствительности кожных покровов нижних конечностей.

### **Бактериологическое исследование**

Для изучения микробиоты длительно незаживающих ран, использовали отделяемое из ран с применением двух тампонов, после предварительной обработки раны и удаления детрита. Один тампон увлажняли стерильным физиологическим раствором, он предназначен для микроскопического исследования, другой – для посева. При подозрении на анаэробную инфекцию использовали третий тампон. При взятии материала учитывали две основные технологии. Из относительно больших по размеру ран (более 5 см<sup>2</sup>) мазок из раны

получали путем зигзагообразного прокатывания стерильного тампона по поверхности раны, избегая ее краев. Для небольших (менее 5 см<sup>2</sup>) ран тампон прокатывали от центра к периферии по всей поверхности раны или по площади не менее 1 см<sup>2</sup>. Тампон, предназначенный для посева, помещали в транспортную среду типа Amies. Увлажненный тампон, предназначенный для микроскопии, помещали в пробирку и плотно закрывали пробкой. Третий тампон для культивирования анаэробов помещали в транспортную среду типа Cary-Blair. Биологический материал доставляли в лабораторию в течение не более 2 часов. Видовую идентификацию, определение чувствительности полученных изолятов к антибактериальным средствам (АБС) выполняли с помощью стандартных бактериологических тестов.

### **Морфологическое исследование**

Гистологическое исследование биоптатов из ран осуществляли по общепринятой методике. Материал фиксировался в 10% формалине с

проведением дегидратации образцов с последующей пропиткой их парафином и формированием гистологических блоков, далее проводилась резка блоков с целью получения ультратонких срезов тканевых образцов при использовании микротомы. Полученные срезы помещались на предметные стекла, которые окрашивались гематоксилином и эозином. Данная клиническая работа выполнялась в условиях патоморфологического отделения Национального научного онкологического центра. Пересмотр гистологических стеклопрепаратов с детальным научным описанием проведен на кафедре гистологии под руководством к.м.н. Көмекбай Ж.Е., НАО «ЗКМУ им. М.Оспанова». Микроскопирование гистологических препаратов проводилось с помощью светового микроскопа при увеличении  $\times 40$ ;  $\times 100$ ;  $\times 400$ . с использованием цифрового светового микроскопа AxioLab A1 (регистрационное удостоверение РК-МТ-7№009046, страна производитель Германия, дата государственной регистрации: 17.08.2018);

### **2.3 Методика рентгенэндоваскулярной реваскуляризации**

В условиях рентген-ангиографической операционной: после обработки операционного поля под местной анестезией Sol. Novocaini 0.5% или Lidocaini 0.2% - 10мл. производится антеградная или ретроградная пункция и катетеризация необходимой общей бедренной артерии по Сельдингеру. В просвет артерии устанавливается интродьюсер 6Fr. по средствам которого, проводят диагностические катетеры в зону интереса, далее внутриаартериально вводится рентгеноконтрастное вещество и в режиме реального времени проводится серия диагностических снимков, на основании которых определяется степень и характер поражения сосудов. Далее принимается решение о проведении реканализации методом баллонной ангиопластики или стентированием пораженного сегмента. При окклюзии сосуда, первым этапом проводится реканализация с последующим восстановлением просвета сосуда.

В зону поражения доставляется баллон или стент необходимого размера (согласно нативному диаметру пораженного сосуда), выполняется последовательная баллонная дилатация с экспозицией до 5 минут или стентирование сосуда.

По завершении проводится контрольная ангиография с оценкой полученного результата.

Инструменты, интродьюсер удаляются с ушиванием пункционного отверстия специальным сшивающим устройством либо проводится мануальный компрессионный гемостаз (до 20 минут над местом пункции) с последующим наложением асептической, давящей повязки на 12 часов с соблюдением постельного режима.

### **2.4 Методика локального применения аллогенных фибробластов**

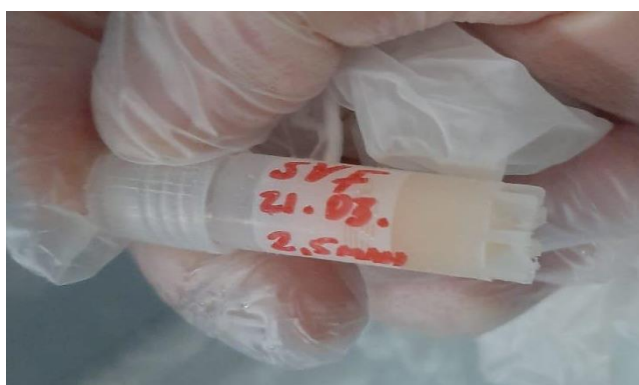
Заготовка, культивирование и криоконсервация аллогенных фибробластов осуществлялась в лаборатории ТОО «Национальный центр биотехнологии» г.Астана. Источником аллогенных фибробластов является перевиваемая культура клеток, полученная от крайней плоти новорождённых [167]. В рамках

исполнения высокотехнологичных медицинских услуг ННОЦ закупает готовую диплоидную культуру фибробластов с предоставлением биологического паспорта на стерильность и процент жизнеспособных клеток в предоставляемой партии.

Клеточный материал, представляющий собой суспензию живых культивированных фибробластов в количестве  $2 \times 10^6$  фибробластов/мл клеток на  $1 \text{ см}^2$  в питательной среде без добавления ксеногенной сыворотки, наносится на раневую поверхность в виде аэрозоля как самостоятельно, так в комплексном хирургическом лечении. В качестве аллогенного материала рекомендуется использование штамма диплоидных эмбриональных фибробластов человека ФЭЧ 2/09 [168], либо других аллогенных клеток, протестированных на биологическую безопасность.

Для наработки необходимого количества клеток проводят последовательные пассажи с коэффициентом рассева 1:2. Кожные фрагменты подвергаются тщательной очистке от контаминирующих тканей под стереомикроскопом. Материал промывается в фосфатно-солевом буфере с антибиотиками (пенициллин 100 ЕД/мл, стрептомицин 100 мкг/мл) для удаления клеток крови и детрита. Диссоциация ткани: применяется комбинированный метод диссоциации - механическое измельчение ткани до фрагментов  $1-2 \text{ мм}^3$  с последующей ферментативной обработкой коллагеназой I типа ( $1-2 \text{ мг/мл}$ ) и диспазой ( $2,4 \text{ ЕД/мл}$ ) при  $37^\circ\text{C}$  в течение 1-2 часов с периодическим перемешиванием.

Полученная клеточная суспензия фильтруется через нейлоновую сетку ( $70 \text{ мкм}$ ), центрифугируется при  $300\text{g}$  в течение 5 минут. Клеточный осадок ресуспендируется в полной культуральной среде (DMEM с 10% FBS, L-глутамином  $2 \text{ мМ}$ , антибиотиками) и высевается в культуральные флаконы с плотностью  $5 \times 10^4$  клеток/ $\text{см}^2$ , после чего замораживаются и хранятся при температуре ( $-86^\circ\text{C}$ ). (рисунок 3).



**Рисунок 3.** Маркированный флакон с культивированными аллогенными фибробластами.

Фибробласты культивируются в CO<sub>2</sub> - инкубаторе на питательной среде при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Смена среды производится каждые 2–3 дня. Пассирование клеточной культуры осуществляется при достижении 80–90% конфлюентности с использованием раствора трипсин-этилендиаминтетрауксусной кислоты. Клетки характеризуются по морфологическим признакам (веретенообразная форма, адгезивный рост) и экспрессии специфических маркеров (виментин, коллаген I типа, отсутствие маркера CD45).

Данная методология обеспечивает получение жизнеспособных фибробластов с высоким пролиферативным потенциалом для дальнейшего использования.

Криоампулы с фибробластами извлекаются из низкотемпературного морозильника (-86°C) и подвергаются быстрому размораживанию на водяной бане при 37°C в течение 1–2 минут до полного растаивания содержимого. Критически важно избежать медленного размораживания, которое может привести к формированию внутриклеточных кристаллов льда и снижению жизнеспособности клеток.

Размороженная клеточная суспензия медленно разбавляется предварительно подогретой до 37°C культуральной средой в соотношении 1:10 с последующим центрифугированием для постепенного удаления DMSO (диметилсульфоксида). Клетки центрифугируются при 1500 оборотов в минуту в течение 5 минут, супернатант удаляется, осадок ресуспендируется в свежей культуральной среде. Жизнеспособность клеток оценивается методом микроскопии с окрашиванием трипанового синего и должна составлять не менее 90%.

Нами использована специализированная фабричная базовая среда, оптимизированная для культивирования фибробластов человека FBM (Fibroblast Basal Medium) Швейцарской компании Lonza. Питательная среда стандартизирована и имеет низкое содержание сыворотки и разработана для нормального роста и функциональной активности фибробластов в контролируемых условиях.

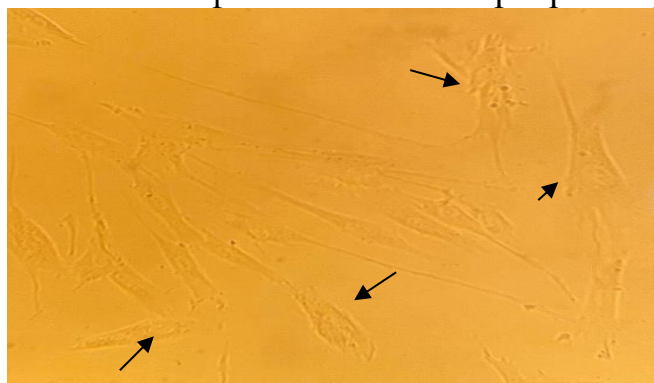
Базовая среда FBM дополняется специальным набором ростовых факторов и добавок (FGM-Fibroblast Growth Medium-2, SingleQuots Kit), включающим: Инсулин (5 мкг/мл) для стимуляции клеточного метаболизма. Фибробластный ростовой фактор-B (bFGF, 1 нг/мл) для поддержания пролиферации. Гентамицин/амфотерицин-B (30 мкг/мл/15 нг/мл) в качестве антимикробной защиты. Эмбриональная телячья сыворотка (2%) для обеспечения необходимых факторов роста.

Использование FBM Lonza соответствует стандартам GMP (Good Manufacturing Practice) и одобрена FDA для работы с человеческими клетками обеспечивая высокую степень стандартизации процесса подготовки клеточного продукта для терапевтического применения. Среда протестирована на отсутствие микоплазм, вирусов и эндотоксинов, что критически важно для клинического использования фибробластов (*рисунок 4*).



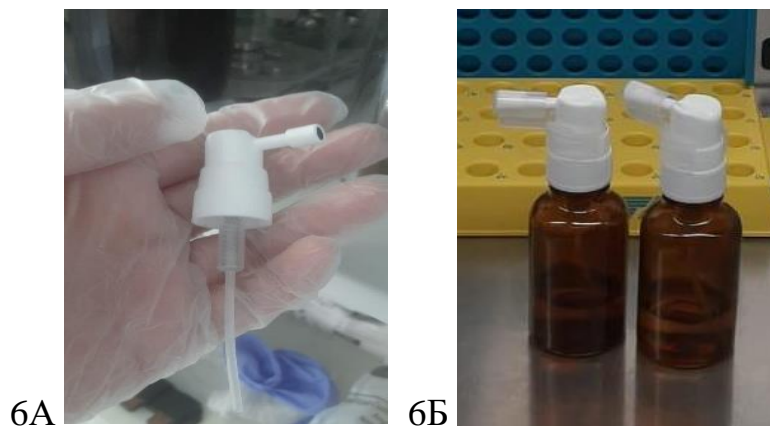
**Рисунок 4.** Базовая среда, оптимизированная для культивирования фибробластов человека FBM (Fibroblast Basal Medium) Lonza.

После стабилизации клетки подсчитываются в камере Горяева или автоматическом счетчике клеток. Концентрация суспензии доводится до  $2 \times 10^6$  фибробластов/мл путем добавления стерильного физиологического раствора или сбалансированного солевого раствора Хенкса. Критически важно поддерживать изотоничность и физиологический pH раствора (рисунок 5).



**Рисунок 5.** Клеточная суспензия. (Аллогенные фибробласты отмечены черными стрелками – удлиненной формы, веретенообразные или звездчатые клетки) (микрофотография ув.об x 10)

Готовая клеточная суспензия переносится в стерильные 10-мл специализированные пробирки-дозаторы (контейнеры) для распыления в асептических условиях. Каждый контейнер содержит 10 мл раствора NaCl 0,9% и клеточную суспензию в концентрации  $2 \times 10^6$  фибробластов/мл достаточной для покрытия раневой поверхности (рисунок 6А, 6Б).



**Рисунок 6А** – Крышка дозатор для распыления. **6Б** - специализированные контейнеры-с крышкой дозатором для распыления.

Непосредственно перед использованием проводится проверка стерильности (отсутствие бактериального роста), жизнеспособности клеток (>85%), морфологической целостности и отсутствия агрегации. Суспензия должна быть использована в течение 2–4 часов после приготовления для сохранения оптимальной жизнеспособности фибробластов.

В клинической практике применение аллогенных фибробластов у пациентов регламентировано клиническим протоколом с кодом 86.66 «Аллотрансплантация кожи», утверждённым приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 16 октября 2020 года № ҚР ДСМ-134/2020 и зарегистрированным в Министерстве юстиции Республики Казахстан 21 октября 2020 года за № 21471. Подготовленные аллогенные фибробласты наносятся аэрозольно (жидкая кожа) на очищенную рану (на расстоянии 10-15см) полностью покрывая раневой дефект, с периодичностью каждые 2 часа пока не закончиться содержимое контейнера (рисунок 7).



**Рисунок 7.** Нанесение суспензии из аллогенных фибробластов на поверхность длительно незаживающей раны

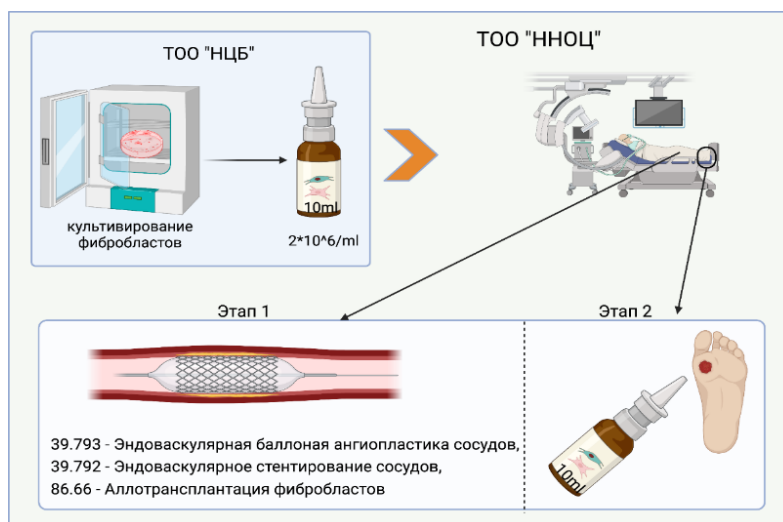
На основании патента «Способ регенерации кожного покрова с использованием клеточного препарата “Фиброспрей”» №27238 от 15.08.2013г. [167] в клинической практике применение аллогенных фибробластов у пациентов регламентировано клиническим протоколом с кодом 86.66

«Аллотрансплантация кожи», утверждённым приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 16 октября 2020 года № ҚР ДСМ-134/2020 и зарегистрированным в Министерстве юстиции Республики Казахстан 21 октября 2020 года за № 21471.

Транспортировка фибробластов из Национального центра биотехнологий в Национальный Научный Онкологический Центр осуществлялось согласно Приказу Министра здравоохранения Республики Казахстан от 25 ноября 2020 года № ҚР ДСМ-207/2020. Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 27 ноября 2020 года № 21683. «Об утверждении правил и условий изъятия, заготовки, хранения, консервации, транспортировки, трансплантации органов (части органа) и (или) тканей (части ткани) от донора к реципиенту».

Подготовленные аллогенные фибробласты содержащиеся в стерильных контейнерах использованы в течение 2–4 часов после приготовления для сохранения оптимальной их жизнеспособности, которые наносятся аэрозольно на очищенную раневую поверхность с расстояния 10-15см, равномерно покрывая всю площадь дефекта, двухкратно с периодичностью 2 часа. Каждый контейнер содержит 10 мл раствора NaCl 0,9% и клеточную суспензию в концентрации  $2 \times 10^6$  фибробластов/мл достаточной для покрытия раневой поверхности.

Схематичное изображение подготовки и применения аллогенных фибробластов в качестве комбинированного метода коррекции длительно незаживающих ран нижних конечностей на фоне хронических облитерирующих заболеваний конечностей представлено на *рисунке 8*.



**Рисунок 8.** Процесс культивирования аллогенных фибробластов и транспортировка в стационар. Комбинированный метод включает эндоваскулярную реканализацию пораженного сосуда в условиях рентгенангиографической операционной с последующим применением аллогенных фибробластов.

## 2.5 Статистические методы обработки данных

Сбор, систематизация первичной информации и формирование базы данных осуществлялись в MS Excel 2021. Статистическая обработка и графическое оформление результатов исследования осуществлялись с помощью программы STATA 19.5 (StataCorp LLC, Texas 77845–4512, США).

Для описания полученных данных использованы методы описательной статистики. В случае нормального распределения данных, рассчитывали среднее значение ( $M$ ), стандартное отклонение и стандартную ошибку средней величины ( $m$ ). Эти показатели позволяют оценить точность среднего значения. Если данные не имели нормального распределения, использовались медиана ( $Me$ ) и интерквартильный размах ( $IQR$ ). Медиана отражает «среднее» значение при выборе, а  $IQR$  отражает разброс 50% центральных значений (25-й – 75-й квартили).

В данном исследовании данные были разного характера: часть переменных измерялась однократно на исходном уровне, а основные клинические показатели, такие как размер язвы, ЛПИ и насыщение кислородом тканей конечностей измерялись несколько раз у одного и того же пациента в разные периоды наблюдения (1, 3, 6, 12 месяцев). Поэтому для корректного анализа сначала нужно было оценить распределение данных. Нормальность распределения количественных переменных была проверена при помощи графиков и теста Шапиро–Уилка. Большинство показателей, таких как возраст, индекс массы тела, ЛПИ и  $TspO_2$ , распределялись примерно нормально, поэтому для их сравнения между двумя независимыми группами был использован классический  $t$ -тест. Для категориальных переменных, таких как наличие диабета, пол или курение, применялся  $X^2$ -тест. Размер язвы на исходном уровне имел выраженную асимметрию, поэтому была использована медиана с межквартильным размахом ( $IQR$ ) и непараметрический тест Манна–Уитни.

Основная часть исследования связана с тем, что пациенты наблюдались перед операцией, во времени, и после операции через 1, 3, 6 и 12 месяцев. Такие данные являются повторными измерениями (*repeated measures*). Простые методы, такие как ANOVA или последовательные  $t$ -тесты, здесь не подходят, потому что они предполагают независимость наблюдений. Но данные у одного и того же пациента связаны между собой. Так же, в реальной клинической практике бывают пропущенные визиты, а ANOVA не умеет корректно с этим работать. Поэтому для анализа динамики была использована смешанная линейная модель (*mixed model*). Этот метод учитывает зависимость между измерениями у одного пациента и допускает пропущенные точки (*missing values*). Именно это взаимодействие показывает, различается ли скорость заживления между группами и как эти различия меняются со временем, что и является ключевым вопросом исследования. В данном случае смешанная модель лучше всего подходит под структуру данных и даёт наиболее корректные результаты.

Для анализа времени до заживления был применен метод Каплана – Майера (КМ). Здесь важно было то, что событие в данном исследовании это заживление, а заживление — это положительный исход. Поэтому кривая КМ

идёт сверху вниз, что правильно, чем быстрее кривая опускается, тем быстрее пациенты достигают заживления. Например, КМ при отрицательном исходе считывается, наоборот, чем быстрее линия идет вниз, тем больше пациентов мы теряем. Такой метод обязателен, потому что у части пациентов заживления не произошло к концу наблюдения, и такие случаи относятся к наблюдениям, в которых событие не произошло до конца периода. Простое сравнение средних сроков заживления здесь невозможно. Каплан–Майер учитывает данные всех пациентов, даже если язва не успела закрыться, и правильно сравнивает группы с помощью лог-ранк теста (log-rank test).

Важно так же, что лог-ранк тест наиболее чувствителен к ранним различиям между кривыми. В нашем случае группы начинают расходиться в более поздний период (после 3 месяцев), поэтому лог-ранк может быть незначимым, даже если визуально разница выглядит значимой. Так бывает для небольших выборок и данных с поздним разделением кривых. Именно поэтому результаты смешанной модели, которая анализирует всю динамику непрерывно, являются более информативными и лучше демонстрируют эффект лечения.

Таким образом, выбор статистических методов полностью продиктован структурой данных и международной практикой анализа клинических исследований. Параметрические и непараметрические тесты использовались для базовых показателей (baseline), а смешанная модель для анализа динамики во времени, Kaplan - Meier использовался для исследования времени до заживления при наличии данных, где событие не наступило до конца наблюдения. Это обеспечивает корректность анализа, учитывает все особенности данных и позволяет сделать обоснованные выводы об эффективности лечения.

### **3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Недостаточная эффективность терапевтических подходов к ведению пациентов с длительно незаживающими ранами нижних конечностей, ассоциированными с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий, в совокупности с ростом распространенности данной патологии и высокой частотой ампутаций, обуславливают необходимость поиска и внедрения инновационных методов лечения.

В исследовании была проведена оценка клинической эффективности предложенного комбинированного метода лечения, включающего эндоваскулярную реваскуляризацию и местное применение аллогенных фибробластов.

Рентгенэндоваскулярные методы реваскуляризации сосудов нижних конечностей нами были применены у 116 пациентов, из них у 58 пациентов проведен комбинированный метод коррекции раневого процесса с локальным применением аллогенных фибробластов. Данная категория пациентов составила основную группу.

Эффективность предлагаемого комбинированного метода коррекции раневого процесса нами определялась в сравнении с больными, которым после рентгенэндоваскулярных вмешательств применялась консервативная терапия с

традиционной хирургической обработкой ран. Эти больные составили контрольную группу, включившую 58 пациентов. С целью выявления преимущества предлагаемых способов лечения нами проведена сравнительная оценка полученных результатов лечения в исследуемых группах.

Лечение пациентов инициировалось с хирургической обработки длительно незаживающих ран в рамках малых оперативных вмешательств (хирургическая обработка ран), после чего назначался комплекс консервативной терапии. Наряду с этим применялись антибактериальные, антикоагулянтные, антиагрегантные и вазодилатирующие препараты. Симптоматическая терапия назначалась с учётом имеющейся сопутствующей патологии. После санации воспалительного процесса в ране проводилась рентгенэндоваскулярная коррекция имеющейся ишемии нижних конечностей.

У больных основной группы после нанесения аллогенных фибробластов раны велись открытым методом с нанесением гелей или мазей (10% Метилурациловая мазь, 5% гель Солкосерил) до полного заживления, избегая механических и химических повреждений раны. В контрольной группе

Основные клинические показатели, по которым оценивалась эффективность лечения, были такие как: сроки заживления ран (изменение площади раны во временном промежутке) после лечения, время наступления грануляции, темпы эпителизации, изменение уровня боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ), показатели ЛПИ и транскутанного напряжения кислорода в тканях поражённой нижней конечности, необходимость в ампутации конечности. Также оценивалось бактериологическое исследование, проводилась УЗДГ сосудов, сроки и исходы лечения.

При проведении статистического анализа между основной и контрольной группами по большинству исходных характеристик не выявлено статистически значимых различий. Как представлено в таблице №1, средний возраст у пациентов в основной группе составил  $SD \pm 55,7$  а в контрольной группе составил  $SD \pm 57,3$  который был сопоставим ( $p = 0,06$ ).

Распределение больных по половой принадлежности также не имело статистически значимых различий ( $p = 0,6$ ), при этом мужчины преобладали в обеих группах, 43 в основной и 37 в контрольной, соотношение женщин 15 в основной и 21 в контрольной группе.

Средние значения ИМТ были схожи в основной  $SD \pm 27,4$  и в контрольной  $SD \pm 27,7$  ( $p = 0,45$ ). Количество курящих пациентов в основной группе - 28 пациентов, в контрольной - 24 пациента ( $p = 0,6$ ).

По сопутствующим заболеваниям: доля участников с диабетом в основной группе составила - 24 пациента и в контрольной - 36 пациентов ( $p = 0,2$ ), пациенты с артериальной гипертензией - 25 (43,1%) в основной группе - 22 (37,9%) в контрольной группе ( $p = 0,7$ ), почечной недостаточностью - 11 (19%) пациентов в основной группе - 8 (13,8%) в контрольной группе ( $p = 0,5$ ), с ишемической болезнью сердца (ИБС) в основной группе - 6 (10,3%) и 3 (5,2%) в контрольной группе ( $p = 0,3$ ), пациенты с гипертензией и диабетом в основной группе - 8 (13,8%) и 4 (6,9%) в контрольной ( $p = 0,3$ ) и пациенты с множественными заболеваниями в основной группе - 4 (6,9%) и 3 (5,2%) в

контрольной группе ( $p = 0,7$ ), которые не имели статистически значимых различий между группами, несмотря на небольшое численное преобладание в основной группе. Так же доля курящих пациентов в основной группе составила - 28 (48,3%) в контрольной - 24 (41,4%),  $p = 0,6$ .

Анализ тяжести хронической ишемии нижних конечностей по классификации Рузерфорд (Rutherford), предложенной в рекомендациях Европейского общества сосудистых хирургов 2020 года, показал сопоставимое распределение пациентов между исследуемыми группами.

В структуре пациентов преобладала I степень ишемии. Наиболее многочисленную группу составили пациенты с ишемией 2-й категории: 23 (39,7%) пациента в основной группе против 29 (50%) пациентов в контрольной группе ( $p = 0,5$ ). Пациенты с 3-й категорией (боль в покое) составили 12 (20,7%) пациентов в основной группе против 14 (24,2%) пациентов в контрольной ( $p = 0,7$ ).

II степень ишемии (4-я категория по Rutherford - небольшие язвенные дефекты) была диагностирована у 10 (17,2%) пациентов основной группы против 6 (10,3%) пациентов контрольной группы ( $p = 0,3$ ).

Наиболее тяжелая III степень ишемии (5-я категория - обширные язвенные дефекты или гангрена) выявлена у 13 (22,4%) пациентов основной группы против 9 (15,5%) пациентов контрольной группы ( $p = 0,4$ ).

Статистический анализ не выявил значимых различий в распределении пациентов по степени тяжести ишемии между группами (все значения  $p > 0,05$ ), что свидетельствует о сопоставимости групп по исходной тяжести заболевания.

**Таблица 1. Характеристика участников исследования (n=116)**

Переменные	Основная группа (n=58)	Контрольная группа (n=58)	p-value (95% CI)
Возраст(лет) среднее значение $\pm$ SD	55,7 $\pm$ 4,12	57,3 $\pm$ 5,04	0,06
Пол (количество и %)			
- Мужчины	43 (74,1%)	37 (63,8%)	0,6
- Женщины	15 (25,9%)	21 (36,2%)	0,4
ИМТ (кг/м <sup>2</sup> ) Среднее значение $\pm$ SD	27,4 $\pm$ 2,1	27,7 $\pm$ 1,97	0,45
Сопутствующие заболевания: (количество и %)			
- Диабет	24 (41,4%)	36 (62,1%)	0,2
- Гипертония	25 (43,1%)	22 (37,9%)	0,7
-Почечная недостаточность	11 (19%)	8 (13,8%)	0,5

- ИБС	6 (10,3%)	3 (5,2%)	0,3
- Гипертония + диабет	8 (13,8%)	4 (6,9%)	0,3
-Множественные расстройства медицинских расстройств) (>2	4 (6,9%)	3 (5,2%)	0,7
Курение (количество и %)	28 (48,3%)	24 (41,4%)	0,6
Классификация Рузерфорда (число и %)			
Степень I, Категория 2	23 (39,7%)	29 (50%)	0,5
Степень I, Категория 3	12 (20,7%)	14 (24,2%)	0,7
Степень II, Категория 4	10 (17,2%)	6 (10,3%)	0,3
Степень III, Категория 5	13 (22,4%)	9 (15,5%)	0,4

Распределение пациентов по клиническим формам заболевания, проводилось согласно «Системе классификации Общества сосудистых хирургов с угрозой поражения конечностей, основанная на ране, ишемии и инфекции стопы **WIFI** (**W**ound- рана, **I**schemia – ишемия, **F**oot **I**nfection- инфекция стопы) - принятой международным обществом сосудистых хирургов в 2013г.

### Распределение пациентов по раневому процессу

Для оценки статистической значимости различий в распределении степеней ран между основной и контрольной группами применён критерий  $\chi^2$ .

Как представлено в таблице 2 распределение пациентов по степени тяжести раневого процесса (Wound- рана).

Полученное значение  $\chi^2=0,14$  при р-значении  $> 0,05$  свидетельствует об отсутствии статистически значимых различий в распределении степеней ран между группами. Это указывает на сопоставимость показателей по степени ран в обеих группах.

Детальный анализ показал следующее распределение степеней тяжести ран:

Степень I (рана до 3 см): В основной группе раны I степени наблюдались у 26 пациентов, в контрольной группе — у 24 пациентов ( $p = 0,718$ ).

Степень II (рана до 5 см): В основной группе раны II степени наблюдались у 32 пациентов, в контрольной — у 34 пациентов ( $p = 0,718$ ).

Значение p-value для обеих степеней тяжести ран (0,718) значительно превышает общепринятый порог статистической значимости в 0,05.

Статистически значимых различий в частоте встречаемости ран I и II степеней между основной и контрольной группами не выявлено.

**Таблица 2. Распределение пациентов по раневому процессу (Wound- рана)**

Степени	Основная группа (n=58)	Контрольная группа (n=58)	p-value
I (рана до 3 см.). Маленькие неглубокие раны на дистальных отделах голени или стопы; отсутствие обнаженной кости, если только она не ограничена дистальной фалангой	26 (44,8%)	24 (41,4%)	0,718
II (рана до 5 см.) Более глубокая рана с обнаженной костью, суставом или сухожилием; как правило, без пятки; неглубокая рана пятки без вовлечения пяточной кости	32 (55,2%)	34 (58,6%)	0,718

### **Клиническое распределение пациентов по типу нарушения микроциркуляции (Ischemia - ишемия) на основе показателей ЛПИ**

В основной группе количество пациентов с умеренной степенью ишемии нижних конечностей составило 13 (22,4%) пациентов, а в контрольной группе данный показатель составил 12 (20,7%) пациентов. Большую часть в сравниваемых группах составили пациенты с критической ишемией нижних конечностей, что соответствует в основной группе 27 (46,5%) пациентам и 25 (43,1%) пациентам в контрольной группе. Выраженная ишемия конечностей выявлена в основной группе у 18 (31,03%) пациентов и 21 (36,2%) в контрольной (таблица 3).

**Таблица 3. Показатели лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ)**

Лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ)	Основная группа (n=58)	Контрольная группа (n=58)	p-value
≥0,90 (норма)	-	-	-
0,6–0,79 (умеренная ишемия)	13 (22,4%)	12 (20,7%)	0,825
0,4–0,59 (критическая ишемия)	27 (46,5%)	25 (43,1%)	0,743
≤0,39 (выраженная ишемия)	18 (31,03%)	21 (36,2%)	0,556

При оценки статистической значимости различий в распределении пациентов по категориям лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) между основной (n=58) и контрольной (n=58) группами использовался критерий хи-

квадрат ( $\chi^2$ ).

Общее значение  $\chi^2 = 0,346$  при  $p > 0,05$  указывает на отсутствие статистически значимых различий в распределении пациентов по степеням ЛПИ между исследуемыми группами, которое свидетельствует о сопоставимости групп по данному показателю.

Для всех категорий ЛПИ значения p-value значительно превышают порог статистической значимости в 0,05. Это подтверждает отсутствие значимых различий по распределению ЛПИ между основной и контрольной группами.

#### **Распределение пациентов по уровню транскутанного (чрескожного) напряжения кислорода (TсрO<sub>2</sub>)**

Как отражено в таблице 4 при анализе распределения пациентов по степени ишемического поражения, между основной (n=58) и контрольной группами (n=58) - 0 степени поражения не обнаружено, что отражает отсутствие у пациентов нормальных показателей микроциркуляции. Количество пациентов с 1-й степенью поражения (TсрO<sub>2</sub> 40–59 мм рт. ст.) в основной группе составило 60,3% (n=35), в контрольной - 55,2% (n=32), где  $p=0,657$ , статистически значимых различий в сравниваемых группах не установлено. Со 2-й степенью поражения (30–39 мм рт. ст.) - 34,5% (n=20) в основной группе и 36,2% (n=21) в контрольной ( $p=0,855$ ), что свидетельствует об отсутствии межгрупповых показателей. При 3-й степени поражения (<30 мм рт. ст.) более тяжелые нарушения перфузии встречались у 5,2% (n=3) пациентов основной группы и у 8,6% (n=5) контрольной группы ( $p=0,464$ ).

**Таблица 4. Распределение пациентов по уровню транскутанного (чрескожного) напряжения кислорода (TсрO<sub>2</sub>)**

Степень поражения	TсрO <sub>2</sub>	Основная группа (n=58)	Контрольная группа (n=58)	p-value
0	≥60 мм рт.ст.	-	-	-
1	40-59 мм.рт.ст.	35 (60,3%)	32 (55,2%)	0,657
2	30-39 мм.рт.ст.	20 (34,5%)	21 (36,2%)	0,855
3	<30мм.рт.ст.	3 (5,2%)	5 (8,6%)	0,464

Для оценки статистической значимости различий в распределении уровней TсрO<sub>2</sub> между основной и контрольной группами применён критерий  $\chi^2$  (хи-квадрат).

Статистически значимых различий между основной и контрольной группами по распределению пациентов по степеням уровня транскутанного

напряжения кислорода не выявлено ( $p > 0,05$ ). Параметры  $T_{SpO_2}$  в обеих группах были сопоставимы.

Распределение пациентов по степени инфицирования представлено в таблице 5.

По степени инфицирования длительно незаживающих ран, наиболее часто встречались пациенты с 1-й степенью инфицирования, так в основной группе количество пациентов составило 31 (53,4%) и в контрольной группе 32 (55,2%), где  $p=0,857$ . Пациенты без признаков инфекции 19 (32,6%) и 18 (31,03%) соответственно, при  $p=0,873$ . Количество пациентов с инфицированием глубоких тканей (сухожилия) в основной группе 5 (8,6%) и в контрольной 6 (10,3%),  $p=0,754$ . Пациенты с обширным инфицированием, что соответствует 3 степени по классификации WIF1 в основной группе было 3 (5,2%) и в контрольной - 2 (3,45%).

Таким образом, между сравниваемыми группами статистически значимых различий не выявлено, показатели по степени инфицирования в обеих группах были сопоставимы.

**Таблица 5. Степень инфицирования раны (Foot Infection- инфекция стопы)**

Степень инфицирования	Основная группа (n=58)	Контрольная группа (n=58)	p-value
0 (нет признаков инфекции)	19 (32,6%)	18 (31,03%)	0,873
1 (поверхностная инфекция)	31 (53,4%)	32 (55,2%)	0,857
2 (глубокая инфекция, абсцесс, флегмона, вовлечение сухожилий, суставов, костей)	5 (8,6%)	6 (10,3%)	0,754
3 (обширная инфекция)	3 (5,2%)	2 (3,4%)	0,638

Распределение степеней поражения между основной и контрольной группами проанализировано с использованием критерия  $\chi^2$  Пирсона. Полученные результаты не выявили статистически значимых различий между группами ( $\chi^2 = 4.10$ ,  $p = 0.250$ ), что свидетельствует об однородности выборок по данному показателю.

Анализ распределения локализации атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей показал отсутствие статистически значимых различий между основной и контрольной группами, которое представлено в таблице 6.

При сегментарном поражении наиболее часто встречалось поражение берцовых артерий у 12 (20,7%) пациентов в основной группе и у 10 (17,2%) - в контрольной ( $p=0,674$ ) и подколенных артерий 7 (12,06%) и 5 (8,6%) соответственно ( $p = 0,553$ ). Поражение аорто-подвздошного сегмента и общих

бедренных артерий наблюдалось реже и составило у 1 (1,7%) пациента в основной группе и у 2 (3,4%) - в контрольной группе ( $p = 0,559$ ), а также у 3 (5,2%) и у 4 (6,9%),  $p = 0,708$  соответственно. Среди многоэтажных поражений преобладало сочетанное поражение подколенных и берцовых артерий у 17 (29,3%) пациентов в основной группе и у 15 (25,9%) - в контрольной ( $p = 0,687$ ). Комбинированное поражение бедренных и берцовых артерий встречалось у 11 (18,9%) пациентов основной группы против 13 (22,4%) контрольной,  $p = 0,662$ . Сочетание поражения подвздошных и бедренных артерий наблюдалось у 7 (12,06%) против 9 (15,5%) пациентов соответственно ( $p = 0,652$ ).

**Таблица 6. Уровни поражения сосудистого русла у пациентов по группам**

Уровень поражения	Основная группа (n=58)	Контрольная группа (n=58)	p-value
<i>Сегментарное поражение</i>			
Аорто-подвздошный сегмент	1 (1,7%)	2 (3,4%)	0,559
Общие бедренные артерии	3 (5,2%)	4 (6,9%)	0,708
Подколенные артерии	7 (12,06%)	5 (8,6%)	0,553
Берцовые артерии	12 (20,7%)	10 (17,2%)	0,674
<i>Многоэтажное поражение</i>			
Подвздошные артерии+бедренные артерии	7 (12,06%)	9 (15,5%)	0,652
Бедренные артерии + берцовые артерии	11 (18,9%)	13 (22,4%)	0,662
Подколенные артерии + берцовые артерии	17 (29,3%)	15 (25,9%)	0,687

Статистический анализ с использованием критерия  $\chi^2$  показал отсутствие статистически значимых различий в распределении уровней поражения сосудистого русла между исследуемыми группами ( $\chi^2 = 1,532$ ,  $p > 0,05$ ), что свидетельствует о сопоставимости групп по анатомическим характеристикам поражения артериального русла нижних конечностей.

Таким образом, проведённый сравнительный анализ исходных параметров клинико-функциональных характеристик пациентов, а также по анатомическим характеристикам поражения основной и контрольной групп показал их полную сопоставимость по степени тяжести раневого процесса, выраженности ишемии, уровню транскутанного напряжения кислорода ( $TcPO_2$ ) и степени инфицированности длительно незаживающих ран. По всем изученным параметрам значения «р» превышали порог статистической значимости ( $p > 0,05$ ), что свидетельствует об отсутствии различий между группами.

Обе группы изначально сопоставимы, что обеспечивает корректность

дальнейшего сравнения эффективности лечебных методов.

### 3.1 Клиническая эффективность комбинированного метода лечения

Наиболее объективным критерием оценки любого метода лечения служат его клинические результаты. В связи с этим эффективность проводимого лечения пациентов с длительно незаживающими ранами на фоне хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних В процессе

Все пациенты хорошо перенесли оперативное вмешательство в объеме рентгенэндоваскулярной реваскуляризации и на первые сутки в послеоперационном периоде, отметили улучшение самочувствия и купирование болей в нижних конечностях, а также значительное потепление нижней конечности. Это обусловлено успешной реканализацией и восстановлением кровотока в нижних конечностях. При дальнейшем динамическом наблюдении пациентам проводилась УЗДГ с измерением ЛПИ, как представлено в таблице 7, в обеих группах показатели существенно улучшились: с  $\sim 0,4$  до операции до  $\sim 0,9$  после операции, сохраняясь на уровне около 1,0 в течение всего периода наблюдения. Существенных различий между группами не наблюдалось (статистически значимых различий ЛПИ между группами не наблюдалось ни в одной точке времени (все  $p > 0,05$ ). Это свидетельствует об эффективности реваскуляризации в обеих группах и о том, что дополнительная терапия фибробластами не оказала дополнительного влияния на ЛПИ.

**Таблица 7. Показатели ЛПИ в динамике по группам**

Время	Контрольная группа (среднее $\pm$ SD)	Основная группа (среднее $\pm$ SD)	p-value (между группами)
Предоперационный	0,41 $\pm$ 0,14	0,42 $\pm$ 0,14	–
Послеоперационный	0,89 $\pm$ 0,12	0,91 $\pm$ 0,13	0,42
1 месяц	1,01 $\pm$ 0,06	1,01 $\pm$ 0,08	0,90
3 месяца	1,02 $\pm$ 0,08	1,03 $\pm$ 0,08	0,67
6 месяцев	1,05 $\pm$ 0,01	1,03 $\pm$ 0,01	0,07
12 месяцев	1,05 $\pm$ 0,09	1,03 $\pm$ 0,09	0,31

*Анализ ЛПИ проводился с помощью линейной модели смешанных эффектов с использованием  $Group \times Time$ ; представленные значения носят описательный характер.*

В таблице 8 представлены сравнительные результаты транскутанного парциального давления кислорода нижних конечностей во времени в основной и контрольной группах. Оценка транскутанного парциального давления кислорода выявила закономерное улучшение тканевой оксигенации после реваскуляризации в обеих группах: с исходных 40,6–40,7 мм.рт.ст. до 59,1–59,6 мм.рт.ст. в раннем послеоперационном периоде с последующим прогрессивным нарастанием до 90,5–92,2 мм.рт.ст. к 12 месяцам. Как представлено в таблице, исходно в обеих группах  $T_{sp}O_2$  составлял около 40%. После операции значения увеличились до около 60% и к 12 месяцам достигли >90%. Примечательно, что в контрольной группе  $T_{sp}O_2$  стабильно был несколько выше через 1, 3, 6 и 12 месяцев, со статистически значимыми различиями.

Таким образом, терапия фибробластами не привела к улучшению оксигенации, и наблюдаемое позднее улучшение заживления язв следует объяснять местным воздействием на ткани, а не системной перфузией.

**Таблица 8. Измерения транскутанного парциального давления кислорода во времени в основной и контрольной группах**

Время	Контрольная группа (среднее ± SD)	Основная группа (среднее ± SD)	p-value (между группами)
Предоперационный	40,7 ± 3,6	40,6 ± 3,9	–
Послеоперационный	59,1 ± 4,2	59,6 ± 4,9	0,55
1 месяц	72,8 ± 7	68,3 ± 7,5	0,01
3 месяца	85,4 ± 4,2	83,6 ± 4,6	0,02
6 месяцев	91,5 ± 2,6	90 ± 3,7	0,01
12 месяцев	92,2 ± 1,8	90,5 ± 2,3	0,001

*Анализ показателей  $T_{sp}O_2$  измерялся с помощью линейной модели смешанных эффектов; более высокие значения указывают на лучшую перфузию.*

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что применение аллогенных фибробластов не оказывает значимого воздействия на макрогемодинамические параметры и показатели регионарной оксигенации. Следовательно, терапевтический эффект клеточной терапии следует рассматривать в контексте локального воздействия на раневой процесс, опосредованного паракринными механизмами, стимуляцией репаративных процессов и модуляцией микроокружения раны, что требовало дальнейшего изучения непосредственных показателей заживления язвенных дефектов.

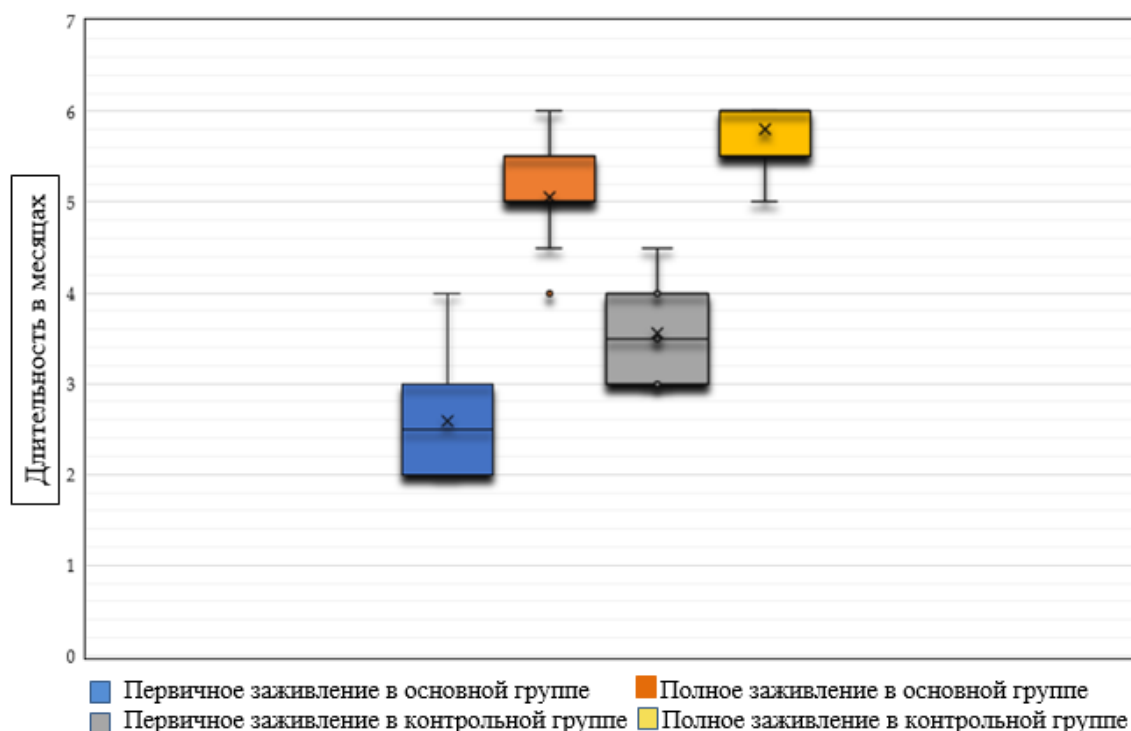
Сравнение сроков заживления хронических ран между основной группой с местным применением аллогенных фибробластов и контрольной группой со стандартной обработкой ран в зависимости от стадии заживления показано на диаграмме №1.

Первичное заживление. В группе аллогенных фибробластов медиана времени до начального заживления составила приблизительно 2,5 месяца (диапазон 2–4 месяца), что значительно меньше по сравнению с контрольной группой, где медиана составила около 3,5 месяца (диапазон 3–4,5 месяца). Различие статистически значимо и демонстрирует ускорение процесса заживления при использовании аллогенных фибробластов.

Полное заживление. Еще более выраженные различия наблюдались в сроках полного заживления язвенных дефектов. В основной группе медиана времени до полного заживления составила около 5 месяцев (диапазон 4,5–6 месяцев), тогда как в контрольной группе - приблизительно 6 месяцев (диапазон 5–6,5 месяцев).

Применение аллогенных фибробластов обеспечило сокращение сроков как начального заживления на 1 месяц, так и полного заживления на 1 месяц по сравнению со стандартной методикой. Данные различия имеют высокую клиническую значимость, поскольку ускорение заживления язвенных дефектов снижает риск инфекционных осложнений, улучшает качество жизни пациентов и сокращает сроки нетрудоспособности. Результаты демонстрируют превосходство метода лечения с использованием аллогенных фибробластов в ускорении процессов репарации тканей при хронических язвах у пациентов с критической ишемией нижних конечностей.

**Диаграмма №1.** Первичное и полное заживление хронических ран после эндоваскулярных вмешательств для исследуемых групп



Корреляционную зависимость между длительностью заживления и эффективностью лечения в основной группе по сравнению с контрольной группой представлена в диаграммах №2, №3.

Основная группа (аллогенные фибробласты). Нижняя линия графика показывает стабильно низкие значения показателей заживления на уровне около 1,0 единицы на протяжении всего периода наблюдения (от 2 до 4,5 месяцев). Данные характеризуются минимальной вариабельностью (узкие доверительные интервалы), что свидетельствует о предсказуемости и стабильности процесса заживления при использовании аллогенных фибробластов.

Контрольная группа (стандартная обработка ран). Верхняя линия демонстрирует прогрессивное увеличение показателей с 2,0 единиц в начальный период до 2,3 единиц к 4,5 месяцам наблюдения. Выраженная положительная корреляция ( $p > 0,8$ ) указывает на прямую зависимость между длительностью лечения и показателями заживления в контрольной группе.

Горизонтальная траектория основной группы в сравнении с восходящей траекторией контрольной группы демонстрирует существенное преимущество применения аллогенных фибробластов. Стабильно низкие показатели в основной группе свидетельствуют о более быстром и эффективном заживлении независимо от сроков наблюдения.

Статистическая значимость. Выраженное расхождение кривых и отсутствие пересечения доверительных интервалов между группами подтверждает статистически значимое различие в эффективности методов лечения на всех этапах наблюдения.

Результаты корреляционного анализа подтверждают клиническое преимущество использования аллогенных фибробластов в ускорении процессов заживления хронических ран после эндоваскулярных вмешательств.

Основная группа (аллогенные фибробласты). Нижняя линия графика показывает стабильно низкие значения показателей заживления на уровне около 1,0 единицы на протяжении всего периода наблюдения (от 2 до 4,5 месяцев). Данные характеризуются минимальной вариабельностью (узкие доверительные интервалы), что свидетельствует о предсказуемости и контролируемом процессе заживления при использовании аллогенных фибробластов.

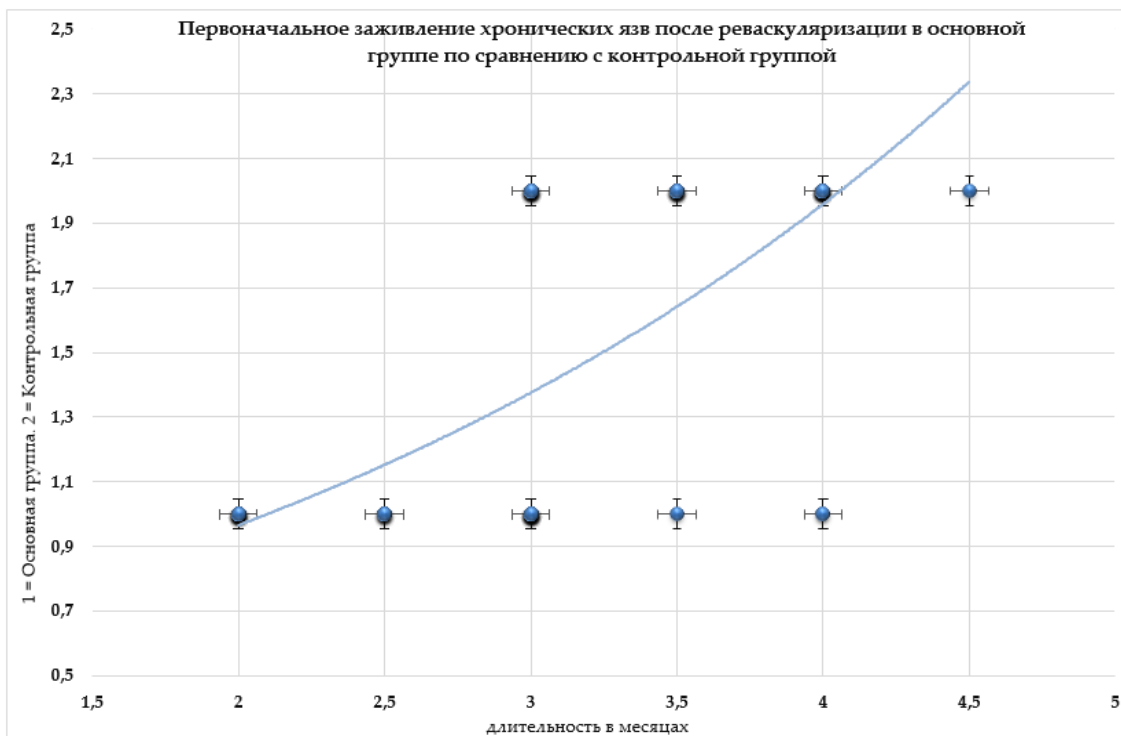
Контрольная группа (стандартная обработка ран). Верхняя линия демонстрирует прогрессивное увеличение показателей с 2,0 единиц в начальный период до 2,3 единиц к 4,5 месяцам наблюдения. Выраженная положительная корреляция ( $p > 0,8$ ) указывает на прямую зависимость между длительностью лечения и показателями заживления в контрольной группе.

Горизонтальная траектория основной группы в сравнении с восходящей траекторией контрольной группы демонстрирует существенное преимущество применения аллогенных фибробластов. Стабильно низкие показатели в основной группе свидетельствуют о более быстром и эффективном заживлении независимо от сроков наблюдения.

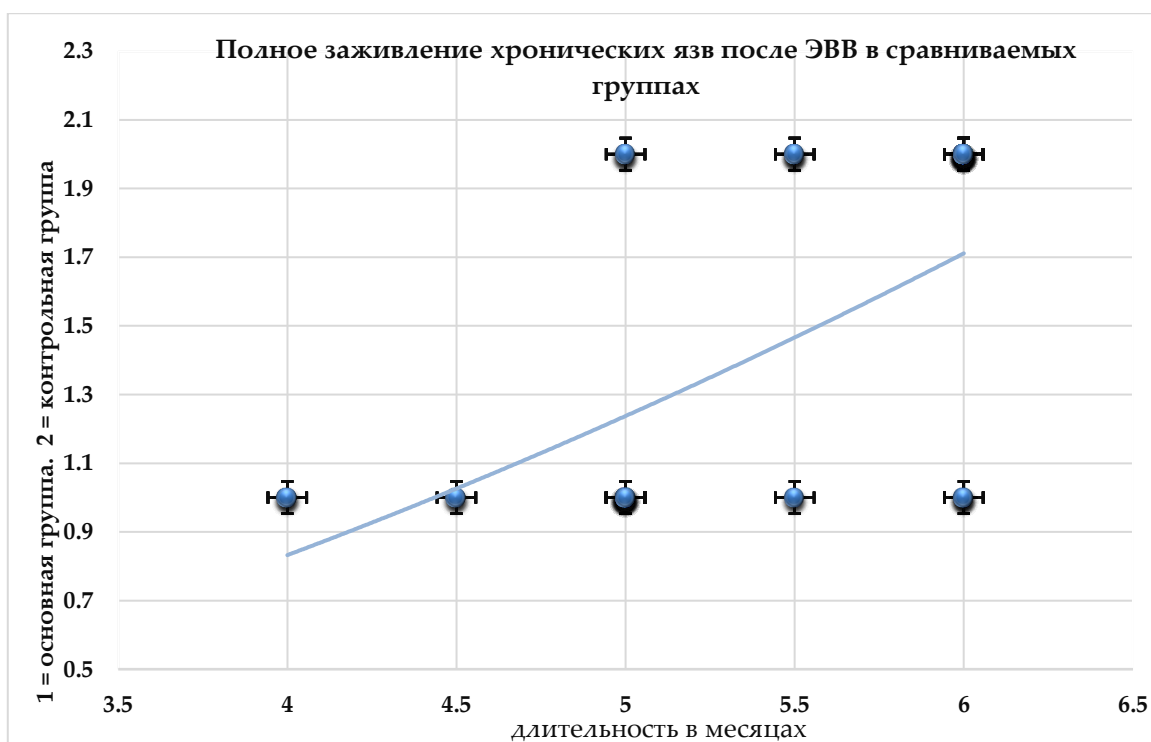
Статистическая значимость. Выраженное расхождение кривых и отсутствие пересечения доверительных интервалов между группами подтверждает статистически значимое различие в эффективности методов лечения на всех этапах наблюдения.

Результаты корреляционного анализа подтверждают клиническое преимущество использования аллогенных фибробластов в ускорении процессов заживления хронических ран после эндоваскулярных вмешательств.

**Диаграмма №2.** Корреляция между первоначальным заживлением хронических ран после эндоваскулярного вмешательства с применением аллогенных фибробластов по сравнению с обычной хирургической обработкой



**Диаграмма №3.** Корреляция между полным заживлением хронических ран после эндоваскулярного вмешательства (ЭВВ) с использованием аллогенных фибробластов по сравнению с традиционной хирургической обработкой ран



Анализ данных демонстрирует четкую бимодальную картину результатов лечения. В нижней части графика (значения около 1,0 по оси Y) располагаются точки, соответствующие группе с традиционной хирургической обработкой ран, которые показывают стабильные результаты на протяжении всего периода наблюдения (4–6 месяцев) без существенной динамики улучшения.

В верхней части диаграммы (значения около 2,0 по оси Y) представлены результаты группы с применением аллогенных фибробластов в сочетании с эндоваскулярными вмешательствами. Эти данные демонстрируют значительно лучшие показатели полного заживления язвенных дефектов, при этом эффективность метода остается стабильно высокой на всех временных интервалах.

Восходящая трендовая линия указывает на положительную корреляцию между продолжительностью наблюдения и степенью заживления, что может отражать кумулятивный терапевтический эффект инновационного подхода с использованием клеточных технологий.

Доверительные интервалы для каждой временной точки свидетельствуют о статистической достоверности полученных различий между группами, что подтверждает клиническую значимость применения аллогенных фибробластов в комплексном лечении хронических язвенных поражений.

Таким образом, локальное применение аллогенных фибробластов в сочетании рентгеноэндоваскулярной реваскуляризацией обеспечило сокращение сроков как первичного заживления от 3,5 месяцев до 2,5 месяцев, так и полного заживления длительно незаживающих ран на 1 месяц (от 6 до 5 месяцев) по сравнению со стандартной методикой, что подтверждается результатами корреляционного анализа.

Сравнительный анализ динамики болевого синдрома, оцененного по визуально-аналоговой шкале боли (ВАШ), показал различную выраженность болевых ощущений в основной и контрольной группах на различных этапах наблюдения (таблица 9, рисунок 9). До оперативного вмешательства средние значения ВАШ статистически значимо не различались и составляли  $6,46 \pm 1,50$  балла в основной группе и  $6,84 \pm 1,62$  балла в контрольной ( $p = 0,196$ ), что указывает на исходную сопоставимость выраженности болевого синдрома.

Через 24 часа после операции уровень боли оставался одинаково высоким в обеих группах:  $6,39 \pm 1,49$  балла против  $6,78 \pm 1,56$  балла соответственно ( $p = 0,175$ ). Статистически значимые различия начали проявляться к моменту выписки, когда интенсивность боли в основной группе снизилась до  $5,68 \pm 1,55$  балла, тогда как в контрольной группе она сохранялась на уровне  $6,43 \pm 1,77$  балла ( $p = 0,016$ ).

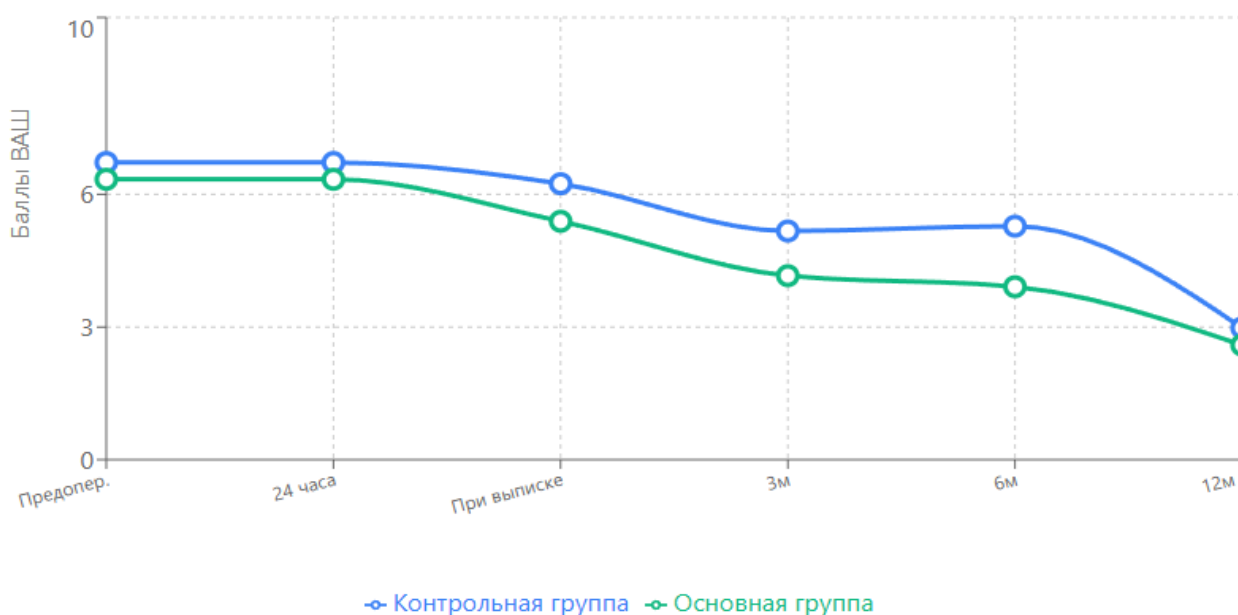
Через 3 месяца после операции различия стали более выраженными: показатели ВАШ составили  $4,38 \pm 1,81$  балла в основной группе против  $5,26 \pm 1,82$  балла в контрольной группе ( $p = 0,010$ ). Аналогичная тенденция сохранялась и через 6 месяцев, где значения шкалы были  $4,27 \pm 1,91$  и  $5,36 \pm 1,99$  балла соответственно ( $p = 0,003$ ).

**Таблица 9. Средние значения показателей по шкале ВАШ на разных этапах наблюдения**

Параметры	Основная группа (n=58) ± SD	Контрольная группа (n=58) ± SD	p-value
До операции	6,46 ± 1,50	6,84 ± 1,62	0,196
Через 24 ч после операции	6,39 ± 1,49	6,78 ± 1,56	0,175
При выписке	5,68 ± 1,55	6,43 ± 1,77	0,016
Через 3 месяца	4,38 ± 1,81	5,26 ± 1,82	0,010
Через 6 месяцев	4,27 ± 1,91	5,36 ± 1,99	0,003
Через 12 месяцев	2,79 ± 1,47	3,09 ± 1,65	0,305

Статистический анализ выполнен с использованием *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок. Уровень значимости:  $\alpha = 0.05$

**Рисунок 9. Динамика болевого синдрома по группам**



Статистически значимые различия начали проявляться к моменту выписки, когда интенсивность боли в основной группе снизилась до  $5,68 \pm 1,55$  балла, тогда как в контрольной группе она сохранялась на уровне  $6,43 \pm 1,77$  балла ( $p = 0,016$ ).

Через 3 месяца после операции различия стали более выраженными: показатели ВАШ составили  $4,38 \pm 1,81$  балла в основной группе против  $5,26 \pm 1,82$  балла в контрольной группе ( $p = 0,010$ ). Аналогичная тенденция сохранялась и через 6 месяцев, где значения шкалы были  $4,27 \pm 1,91$  и  $5,36 \pm 1,99$  балла соответственно ( $p = 0,003$ ).

Через 12 месяцев после вмешательства наблюдалось дальнейшее снижение

выраженности болевого синдрома в обеих группах, однако статистически значимых различий между ними уже не отмечалось:  $2,79 \pm 1,47$  балла в основной группе и  $3,09 \pm 1,65$  балла — в контрольной ( $p = 0,305$ ).

Таким образом, результаты сравнительного анализа динамики болевого синдрома показывают, что выраженность болевых ощущений в области длительно незаживающих ран значительно меньше в группе больных, где использована рентгеноэндоваскулярная реваскуляризация в сочетании с локальным применением аллогенных фибробластов начиная с момента выписки ( $5,68 \pm 1,55$  против  $6,43 \pm 1,77$  балла,  $p = 0,016$ ).

### 3.2 Результаты местного применения аллогенных фибробластов при длительно незаживающих ранах у пациентов с хронической артериальной недостаточностью

Как представлено в таблице 10 инфильтрация краев раны после комбинированного метода лечения проходила на  $5,9 \pm 0,5$  суток быстрее ( $p < 0,01$ ), по сравнению с контрольной. У больных основной группы также отмечалось более раннее появление грануляции и эпителизации ран на  $4,8 \pm 0,6$  суток и на  $7,7 \pm 0,7$  сутки ( $p < 0,01$ ) соответственно, чем в контрольной группе.

**Таблица 10. Динамика заживления ран у больных контрольной и основной групп**

Показатели	Контрольная группа (n=58)	Основная группа (n=58)
Исчезновение инфильтрации краев раны (сутки)	$12,6 \pm 0,3$	$6,7 \pm 0,5^{**}$
Время появления грануляций (сутки)	$13,3 \pm 0,8$	$8,5 \pm 0,6^*$
Время появления эпителизации (сутки)	$21,4 \pm 0,4$	$13,3 \pm 0,7^{**}$
<i>Примечания</i>		
1 - * достоверность различий ( $p < 0,05$ )		
2 - ** достоверность различий ( $p < 0,01$ )		

Динамика изменения размера длительно незаживающей раны в ходе наблюдения показана в таблице 11 (описательный продольный анализ). Обе группы продемонстрировали уменьшение с течением времени, но скорость и величина уменьшения различались. В начале исследования размер ран был немного больше в основной группе, где локально применяли аллогенные фибробласты ( $8,7 \text{ см}^2$  против  $6,8 \text{ см}^2$ ,  $p = 0,17$ ). Через месяц средний размер ран уменьшился в обеих группах без существенной разницы между группами. Начиная с трех месяцев, основная группа показала заметное уменьшение: через 3 месяца средний размер раны составил  $0,9 \text{ см}^2$  по сравнению с  $3,3 \text{ см}^2$  в

контрольной группе ( $p < 0,001$ ); через 6 месяцев — 0,4 против 3,5 см<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ); и через 12 месяцев — почти полное заживление у пациентов с аллогенными фибробластами (0,1 см<sup>2</sup>) по сравнению с длительно незаживающими ранами в контрольной группе (3,5 см<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ).

Эти описательные продольные результаты (средние значения и  $p$ -значения в каждой временной точке) дают первое впечатление об эффекте лечения, но не учитывают исходные различия или корреляции у пациентов.

**Таблица 11. Размер длительно незаживающих ран (S, см<sup>2</sup>) с течением времени по группам**

Время	Контрольная группа (n=58)	Основная группа (n=58)	p-value (между группами)
Предоперационный	6,8 ± 6,2	8,7 ± 8,5	-
1 месяц	4,1 ± 4,4	4,4 ± 5,9	0,771
3 месяца	3,3 ± 4,1	0,9 ± 2,5	0.001
6 месяцев	3,5 ± 4,4	0,4 ± 0,9	0.001
12 месяцев	3,5 ± 4,4	0,1 ± 0,1	0.001

*Анализ проведен с использованием t-критерия для независимых выборок*

### **Регрессионный анализ размера ран (расширенное моделирование)**

Для учета повторных измерений, различий исходных показателей и корреляции между пациентами применялась линейная модель регрессии со смешанными эффектами (таблица 12).

Эффект времени: размер раны значительно уменьшился в ходе последующих наблюдений по сравнению с исходным уровнем. Уменьшение составило – 4,4 см<sup>2</sup> через 1 месяц, –7,8 см<sup>2</sup> через 3 месяца, – 8,4 см<sup>2</sup> через 6 месяцев и –8,7 см<sup>2</sup> через 12 месяцев (все значения  $p < 0,001$ ).

Взаимодействие «группа × время»: различия между группами увеличивались со временем. Через 1 месяц раны в контрольной группе были на 1,7 см<sup>2</sup> больше, чем в основной группе с использованием аллогенных фибробластов ( $p = 0,04$ ). К 12 месяцам эта разница достигла 5,3 см<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ).

Ковариаты: возраст, пол, диабет и курение не оказали существенного влияния на результаты.

**Таблица 12. Результаты модели смешанных эффектов для размера ран**

Переменная	Коэффициент	Стандартная ошибка	z-оценка	p> z	[95% ДИ]
Группа (контрольная против основная)	-2.57	0,96	-2,69	0,007	от -4,44 до -0,70
Время: 1 месяц против предоперационного периода	-4.43	0,58	-7,66	<0,001	от -5,56 до -3,30
Время: 3 месяца против предоперационного периода	-7,77	0,57	-13.59	<0,001	от -8,89 до -6,65
Время: 6 месяцев против предоперационного периода	-8.36	0,57	-14.62	<0,001	от -9,49 до -7,24
Время: 12 месяцев против до операционного периода	-8,67	0,57	-15.16	<0,001	от -9,79 до -7,55
Взаимодействие: Контрольная группа × 1 месяц	1.67	0,81	2.06	0,040	от 0,08 до 3,27
Взаимодействие: Контрольная группа × 3 месяца	4.24	0,81	5.25	<0,001	2,66–5,83
Взаимодействие: Контрольная группа × 6 месяцев	5.03	0,81	6.21	<0,001	3,44–6,61
Взаимодействие: Контрольная группа × 12 месяцев	5.33	0,81	6.59	<0,001	3,75–6,92
Возраст (в год)	-0,09	0,05	-1,73	0,084	-0,18 до 0,01
Пол (мужской или женский)	-1.17	0,88	-1,34	0,181	-2,89 до 0,55
Диабет (да или нет)	0,12	0,77	0,16	0,873	-1,38 до 1,63

Курение (да или нет)	1.22	0,90	1.36	0,174	-0,54 до 2,98
Постоянный	15.02	3.60	4.18	<0,00 1	с 7.97 по 22.06

Регрессионный анализ добавляет важное измерение за пределы описательных средств: он количественно оценивает эффект лечения с поправкой на сопутствующие факторы и время, подтверждая, что терапия аллогенными фибробластами независимо ускорила заживление ран.

Таким образом, результаты местного применения аллогенных фибробластов при длительно незаживающих ранах у пациентов с хронической артериальной недостаточностью показывают почти четырехкратное уменьшение ран через 3 месяца (средний размер раны составил 0,9 см<sup>2</sup> по сравнению с 3,3 см<sup>2</sup> в контрольной группе (p<0,001); через 6 месяцев в 9 раз — 0,4 см<sup>2</sup> против 3,5 см<sup>2</sup> (p<0,001); и через 12 месяцев — почти полное заживление (0,1 см<sup>2</sup>) по сравнению с контрольной группы -3,5 см<sup>2</sup>( p<0,001).

### **Прогнозируемые предельные средние значения (описательные результаты на основе модели)**

В таблице 13 представлены скорректированные средние размеры ран, рассчитанные с помощью регрессионной модели. В основной группе размер ран уменьшился с 9,1 см<sup>2</sup> на исходном уровне до 0,4 см<sup>2</sup> через 12 месяцев. В контрольной группе, напротив, раны изначально были меньше (6,5 см<sup>2</sup>), но к 12 месяцам достигли показателей около 3,2 см<sup>2</sup>.

Этот описательный результат, основанный на модели, более надёжен, чем необработанные средние значения по группам (таблица 10), поскольку включает корректировку по ковариатам и корреляциям. Он показывает, что, хотя контрольная группа начиналась с небольших ран, терапия аллогенными фибробластами приводила к более полному заживлению длительно незаживающих ран.

**Таблица 13. Прогнозируемые границы (скорректированный средний размер раны, см<sup>2</sup>)**

Группа и время	Предсказанное среднее	Стандартная ошибка	[95% ДИ]
Основная – Предоперационный	9.07	0,64	7.81 – 10.33
Основная – 1 месяц	4.64	0,65	3.37 – 5.91
Основная – 3 месяца	1.30	0,64	0,04 – 2,56
Основная – 6 месяцев	0,71	0,64	-0,56 – 1,97
Основная – 12 месяцев	0,40	0,64	-0,86 – 1,67

Контрольная – Предоперационный	6.50	0,64	5.24 – 7.76
Контрольная – 1 месяц	3.75	0,64	2.49 – 5.01
Контрольная – 3 месяца	2.97	0,64	1.71 – 4.23
Контрольная – 6 месяцев	3.16	0,64	1.90 – 4.42
Контрольная – 12 месяцев	3.16	0,64	1.90 – 4.42

### Смешанные эффекты регрессии

В смешанной модели, измеряющей динамику размера язвы, установлены существенные различия между заключением и медицинским наблюдением.

**Межгрупповые различия.** На исходном уровне раны у пациентов контрольной группы были в среднем меньше на 2,6 см<sup>2</sup> (95% ДИ: –4,44; –0,70,  $p=0,007$ ), чем у пациентов основной группы. Это указывает на то, что контрольная группа стартовала с менее выраженными ранами.

**Эффект времени.** По сравнению с исходным уровнем размер раны значительно уменьшился уже через 1 месяц (–4,43 см<sup>2</sup>, 95% ДИ: –5,56; –3,30,  $p<0,001$ ). К 3 месяцам снижение составило –7,77 см<sup>2</sup> (95% ДИ: –8,89; –6,65,  $p<0,001$ ), к 6 месяцам –8,36 см<sup>2</sup> (95% ДИ: –9,49; –7,24,  $p<0,001$ ), а к 12 месяцам –8,67 см<sup>2</sup> (95% ДИ: –9,79; –7,55,  $p<0,001$ ). Таким образом, раны в среднем уменьшаются во времени.

**Взаимодействие «группа × время».** подтверждение между заключением со временем становились выраженными. Уже через 1 месяц в контрольной группе раны были на 1,67 см<sup>2</sup> больше, чем в группе фибробластов (95% ДИ: 0,08; 3,27,  $p=0,040$ ). К 3 месяцам разница достигла +4,24 см<sup>2</sup> (95% ДИ: 2,66; 5,83,  $p<0,001$ ), к 6 месяцам +5,03 см<sup>2</sup> (95% ДИ: 3,44; 6,61,  $p<0,001$ ), а к 12 месяцам +5,33 см<sup>2</sup> (95% ДИ: 3,75; 6,92,  $p<0,001$ ). Это свидетельствует о том, что заживление в контрольной группе происходит значительно медленнее, чем в основной группе с использованием фибробластов.

**Ковариаты.** Возраст влиял на уменьшение размера раны ( $\beta=-0,09$  на каждый год, 95% ДИ: –0,18; 0,01,  $p=0,084$ ), однако результат не достиг статистической значимости. Пол, диабет и курение также не показали отрицательных результатов в обществе ( $p>0,05$ ).

**Константа.** Константные модели (15,0, 95% ДИ: 7,97; 22,06,  $p<0,001$ ) отражают исход ожидаемого размера ран для референсной категории: женщины, некурящие, без диабета, в основной группе, на данный момент базовый уровень. Маргинальные средства (предсказанные значения).

Таким образом, анализ предсказанных средних значений показал, что в основной группе в начале лечения размер ран составлял 9,07 см<sup>2</sup>, к 3 месяцам средний размер составляет всего 1,3 см<sup>2</sup> и к 12 месяцам уменьшился до 0,4 см<sup>2</sup>,

в тоже время в контрольной группе заживление протекало медленнее и к 12 месяцам сохранялся средний размер ран около 3,2 см<sup>2</sup>.

### **Микробный пейзаж**

Микробный пейзаж с раневой поверхности, у пациентов основной и контрольной групп, определяемый в динамике на фоне проводимого комплексного консервативного лечения представлен в таблице 14.

Из представленной таблицы видно, что для пациентов контрольной и основной групп, на фоне лечения, было характерно снижение уровня микробной обсемененности, однако при анализе выявлены различия между группами.

У всех пациентов с длительно незаживающими ранами нижних конечностей при поступлении в стационар из раневого отделяемого выделялась полиморфная микрофлора. Доминирующим возбудителем являлся *Staphylococcus aureus*, выявленный в основной группе в 44,8% случаев, в контрольной — в 53,4%. *Staphylococcus epidermidis* определялся у 36,2% и 39,6% пациентов соответственно, *Streptococcus pyogenes* — у 22,4% и 17,2%. Условно-патогенные микроорганизмы рода *Proteus* регистрировались значительно реже: *Proteus vulgaris* — в 15,5% и 18,9% случаев, *Proteus mirabilis* — в 12,1% и 8,6% соответственно.

На фоне проводимого лечения в обеих группах отмечалась положительная динамика в виде постепенного снижения частоты выявления патогенных микроорганизмов. Частота обнаружения *Staphylococcus aureus* в основной группе к 7-м суткам сократилась до 24,1%, к 14-м — до 6,9%, к 30-м суткам — до 3,4%. В контрольной группе аналогичные показатели составили 32,7%, 13,7% и 8,6% соответственно. Сходная закономерность прослеживалась в отношении *Staphylococcus epidermidis*: в основной группе частота его выявления снизилась с 36,2% до 25,8%, 13,7% и 8,6% на 7-е, 14-е и 30-е сутки соответственно, тогда как в контрольной группе — с 39,6% до 24,1%, 15,5% и 12,1%. Частота обнаружения *Streptococcus pyogenes* к 30-м суткам в обеих группах достигла минимальных значений — по 1,7%. Микроорганизмы рода *Proteus* к концу периода наблюдения в основной группе не выявлялись, тогда как в контрольной группе *Proteus vulgaris* сохранялся у 1,7% пациентов.

Таким образом, динамика микробиологических показателей свидетельствует о более эффективной санации раневой поверхности в основной группе на протяжении всего периода наблюдения.

**Таблица 14 - Микробиологическая характеристика ран в основной и контрольной группах**

Виды микроорганизмов		Определение микроорганизмов в ране							
		При поступлении		После начала лечения					
				7 сутки		14 сутки		30 сутки	
		осн .	кон тр.	осн .	кон тр.	осн .	кон тр.	ос н.	кон тр.
Staphylococcus aureus	абс.	26	31	14	19	4	9	2	5
	%	44,8%	53,4%	24,1%	32,7%	6,9%	13,7%	3,4%	8,6%
Streptococcus pyogenes	абс.	13	10	7	6	3	2	1	1
	%	22,4%	17,2%	12,1%	10,3%	5,1%	3,4%	1,7%	1,7%
Staphylococcus epidermidis	абс.	21	23	15	14	8	9	5	7
	%	36,2%	39,6%	25,8%	24,1%	13,7%	15,5%	8,6%	12,1%
Proteus vulgaris	абс.	9	11	5	7	2	3	0	1
	%	15,5%	18,9%	8,6%	12,1%	3,4%	5,1%	0	1,7%
Proteus mirabilis	абс.	7	5	5	3	1	1	0	0
	%	12,1%	8,6%	8,6%	5,1%	1,7%	1,7%	0	0

Также эффективность проводимого лечения оценивалась по динамике заживления ран и исходов лечения.

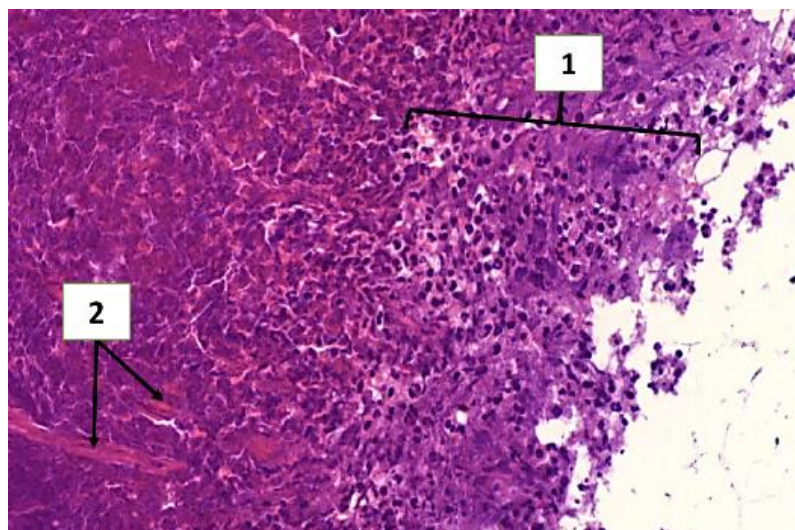
Процесс очищения и заживления раны сопровождается последовательной сменой всех фаз раневого процесса: воспалительной, пролиферативной и фазы реорганизации рубца.

В ходе выполнения исследования, а также в рамках выполнения второй задачи, были проанализированы гистологические изменения после трансплантации фибробластов, которые демонстрировали характерную динамику интеграции и функциональной активности пересаженных клеток в тканях реципиента.

Заживление раны при хронических облитерирующих заболеваниях характеризуется удлинением фазы воспаления и торможением пролиферации. Для того чтобы обнаружить указанные изменения и оценить влияние применения аллогенных фибробластов нами изучены микропрепараты биоптатов ран. Биоптаты были взяты до начала лечения на 7, 14, 30 и 90 сутки после начала лечения.

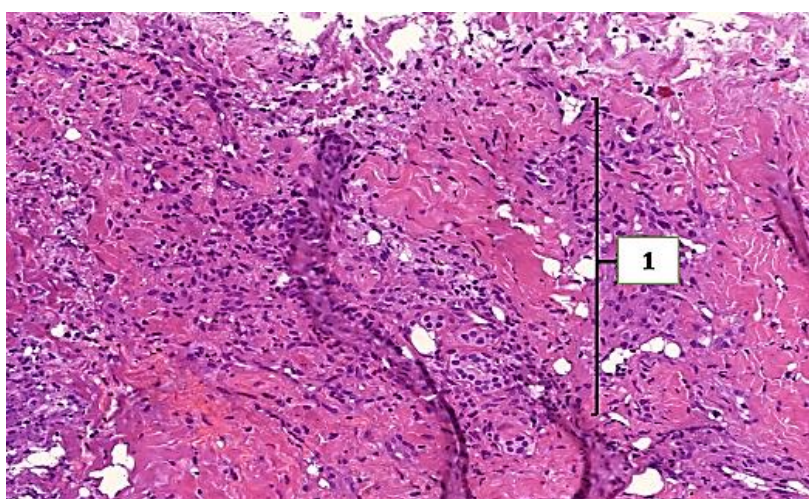
В ранний период (7 дней) основной группы, в зоне раневого дефекта отмечается выраженная воспалительная реакция, представлена преимущественно лимфо-гистиоцитарными элементами с примесью нейтрофилов. Определяются участки грануляционной ткани с активной

пролиферацией фибробластов, прорастающими капиллярами и незначительным количеством коллагеновых волокон. Эпителизация краёв раны находится на стадии начального формирования (рисунок 10).



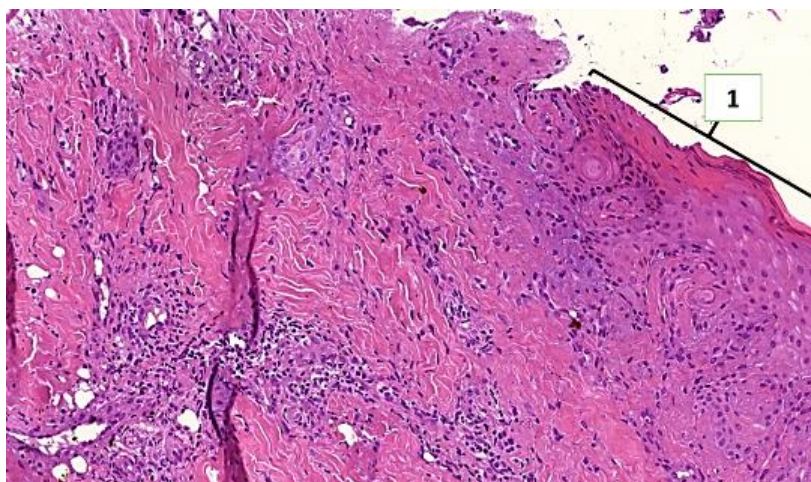
**Рисунок 10.** Раневая область на 7-е сутки. Выраженная воспалительная инфильтрация (1), участок грануляционной ткани с незначительным количеством коллагеновых волокон (2). Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

В промежуточный период (14 день) грануляционная ткань занимает значительную часть раневой поверхности, становится более зрелой. Отмечается выраженная активность фибробластов с интенсивным синтезом межклеточного матрикса и коллагеновых волокон, ориентированных параллельно поверхности раны. Воспалительная инфильтрация значительно уменьшается. Процесс неоангиогенеза выражен, сосудистая сеть хорошо развита (рисунок 11).



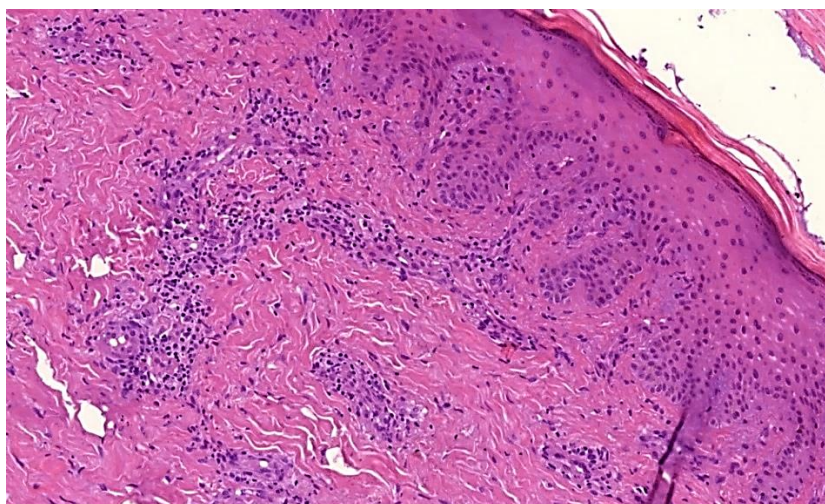
**Рисунок 11.** Раневая область на 14-е сутки. Зрелая грануляционная ткань с развитой сосудистой сетью. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

На 30 с начинается активная эпителизация с краёв дефекта, местами формируется многослойный плоский эпителий. Воспалительная инфильтрация значительно уменьшается, доминируют процессы ремоделирования (*рисунок 12*).



**Рисунок 12.** Раневая область на 30-е сутки. Краевая эпителизация дефекта (1). Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

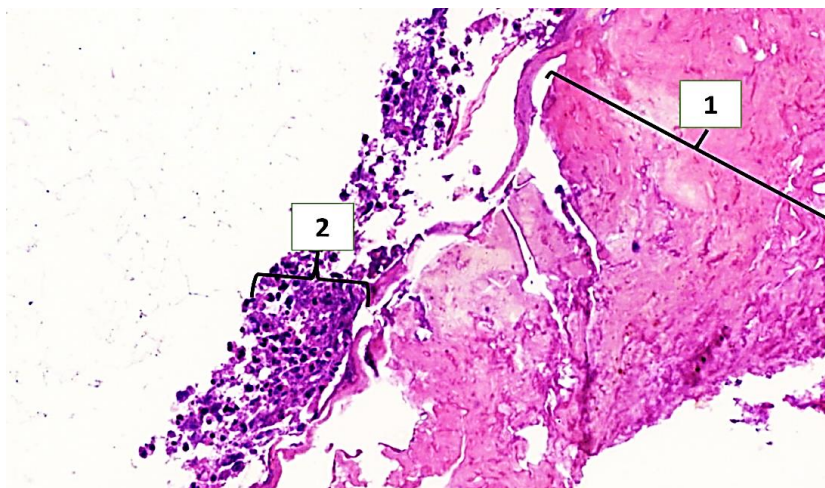
В поздний период (90 день) Раневая поверхность покрыта эпителием. Трансплантированные фибробласты интегрируются в архитектуру тканей реципиента, формируя организованные пучки коллагеновых волокон. Элементы сосудистой сети редуцируются, что свидетельствует о завершении репаративного процесса (*рисунок 13*).



**Рисунок 13.** Полная эпителизация раневой поверхности на 90-е сутки. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

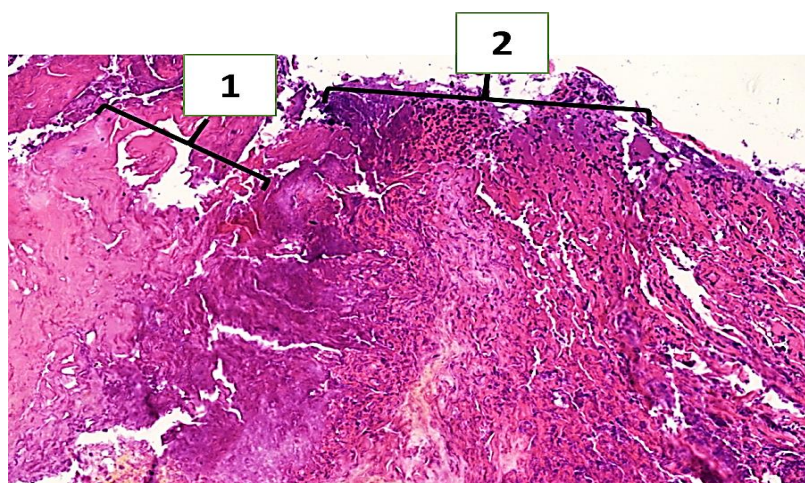
**В контрольной группе** в микропрепаратах, полученных на 7-е сутки от начала лечения, в области раневого дефекта выявлялись участки тканевого детрита, отграниченные выраженным лейкоцитарным валом, представленным

преимущественно нейтрофильными гранулоцитами с признаками выраженной дистрофии (*рисунок 14*).



**Рисунок 14.** Микропрепарат из раны в контрольной группе на 7 сутки лечения. Обширные участки тканевого детрита (1), представленные аморфными эозинофильными некротическими массами с утратой тканевой архитектоники, отграниченные выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (2). Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

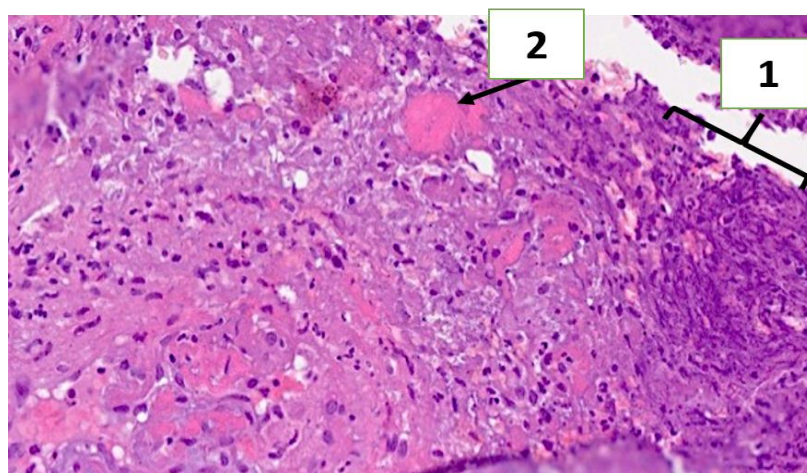
На 14 сутки в большинстве микропрепаратов тканевой детрит подвергся лизису и отторжению. Сохраняется полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация стенок раны с преобладанием лимфо-гистиоцитарных элементов; в части микропрепаратов выявляется значительное количество нейтрофильных гранулоцитов. Признаки формирования зрелой грануляционной ткани и полноценного коллагенообразования отсутствуют (*рисунок 15*).



**Рисунок 15.** Морфологическая картина раневой области в контрольной группе на 14-е сутки лечения. Участки лизированного и частично отторгнутого тканевого

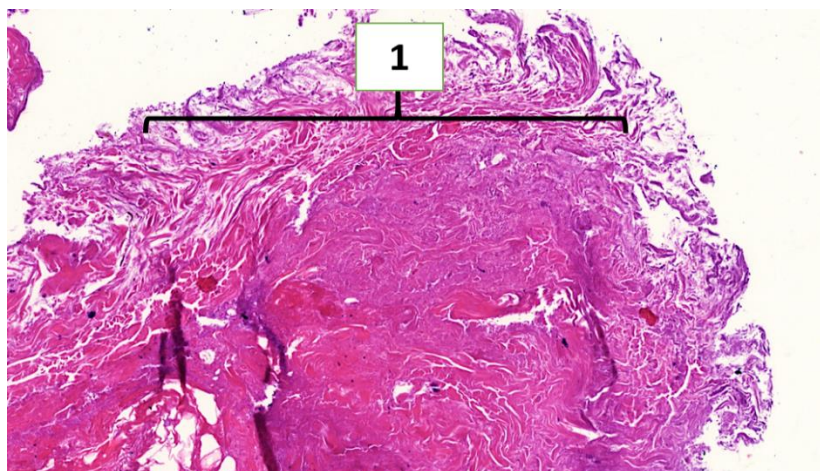
детрита (1). Воспалительная инфильтрация стенок раны (2). Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 40$ .

К 30-м суткам морфологическая картина характеризуется сохранением лимфогистиоцитарной инфильтрации умеренной степени выраженности, наличием участков остаточного тканевого детрита и отсутствием признаков формирования зрелой грануляционной ткани. Выраженного коллагенообразования не выявлено, что свидетельствует о замедлении репаративных процессов (рисунк 16).



**Рисунок 16.** Лимфогистиоцитарная инфильтрация умеренной выраженности (1) и остаточный тканевой детрит (2) при отсутствии зрелой грануляционной ткани на 30 - е сутки лечения. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

На 90-е сутки в контрольной группе морфологическая картина свидетельствовала о незавершённости репаративного процесса. В большинстве микропрепаратов сохранялись признаки хронического воспаления в виде очаговой лимфогистиоцитарной инфильтрации стромы. Полная эпителизация раневой поверхности отсутствовала. Коллагеновые пучки тонкие, рыхло организованные, без признаков формирования полноценного рубца. Элементы сосудистой сети сохранялись в избыточном количестве, что отражает продолжающийся, но не завершённый процесс неоангиогенеза. Отдельные участки остаточного тканевого детрита и дистрофически изменённых клеточных элементов указывали на затяжной характер воспалительно-деструктивных процессов и замедленную регенерацию. Полученные данные свидетельствуют о нарушении фазового течения раневого процесса и сниженной эффективности репаративной регенерации в условиях стандартного лечения без применения аллогенных фибробластов (рисунк 17).



**Рисунок 17.** Морфологическая картина раневой области в контрольной группе на 90-е сутки лечения. Плотная волокнистая соединительная ткань с преобладанием грубых, неупорядоченно ориентированных пучков коллагеновых волокон (1). Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 40$ .

Таким образом, сравнительный анализ морфологических данных основной и контрольной групп показал, что локальное применение аллогенных фибробластов в сочетании с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией способствует оптимизации фазового течения раневого процесса, ускоренному переходу от воспаления к пролиферации и ремоделированию, а также повышению эффективности репаративной регенерации.

### **3.3 Анализ отдаленных результатов комбинированного метода лечения длительно незаживающих ран у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей**

#### **Прогнозируемые вероятности из регрессии (расширенный предиктивный анализ)**

Прогнозируемые на основе модели вероятности заживления показаны в таблицах 15–16 и проиллюстрированы на линейных графиках регрессии с 95% доверительными интервалами (рисунки 17 и 18).

Для первичного заживления прогнозируемая вероятность неуклонно возрастала до 93,7% в основной группе через 12 месяцев по сравнению с 47% в контрольной группе.

Для полного заживления у пациентов основной группы вероятность снова достигла 93,7%, тогда как у контрольной группы она осталась на уровне всего 33%.

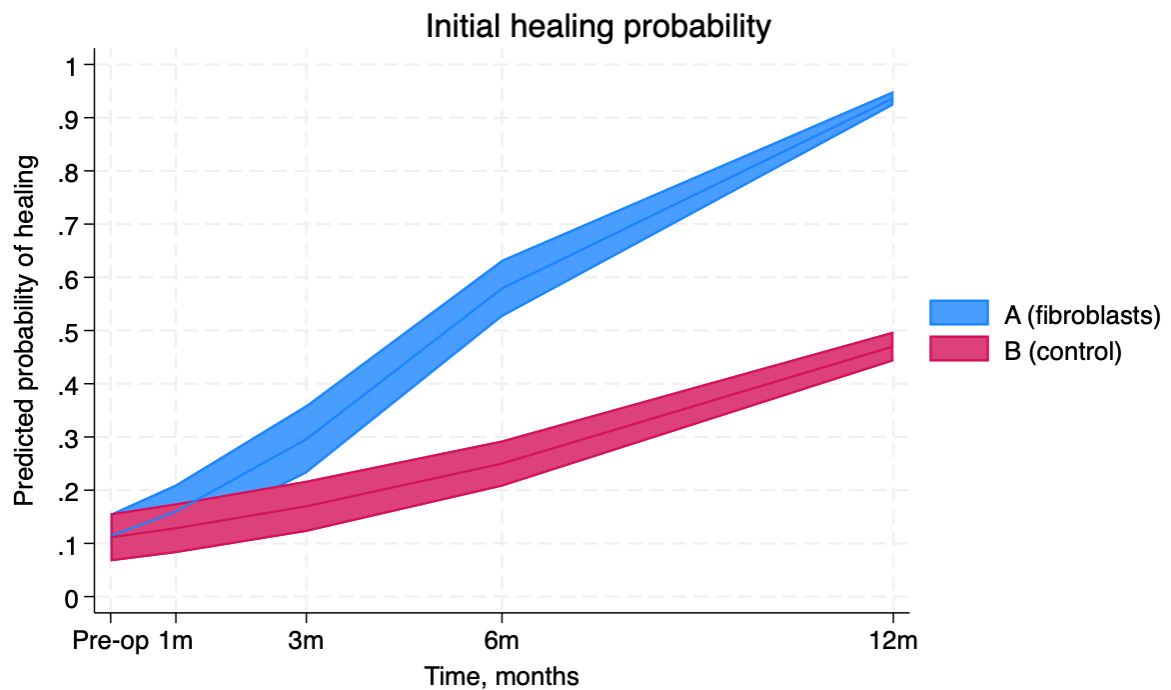
**Таблица 15. Прогнозируемая вероятность первичного заживления по времени и группе**

Время (месяцы)	Основная группа	95% ДИ	Контрольная группа	95% ДИ
Предоперационный (0)	0,114	0,072 – 0,156	0,111	0,066 – 0,156
1	0,160	0,109 – 0,211	0,128	0,082 – 0,175
3	0,296	0,231 – 0,360	0,170	0,122 – 0,218
6	0,579	0,525 – 0,633	0,250	0,207 – 0,293
12	0,937	0,923 – 0,950	0,470	0,442 – 0,498

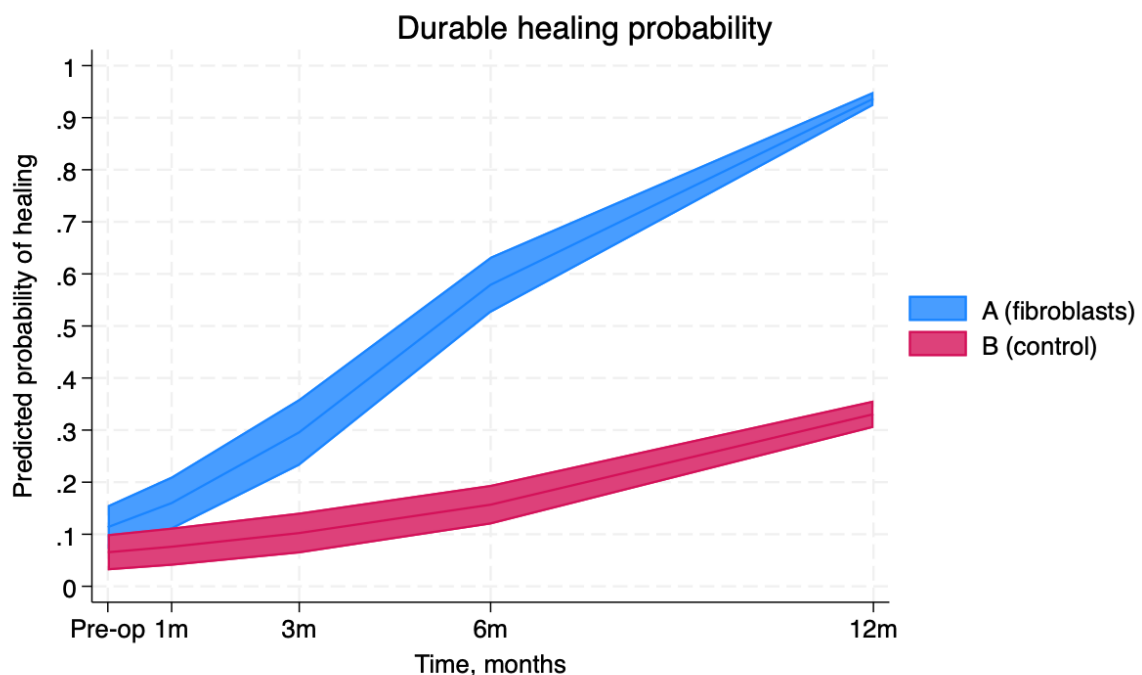
**Таблица 16. Прогнозируемая вероятность полного заживления по времени и группе**

Время (месяцы)	Основная группа	95% ДИ	Контрольная группа	95% ДИ
Предоперационный (0)	0,114	0,072 – 0,156	0,065	0,031 – 0,100
1	0,160	0,109 – 0,211	0,076	0,039 – 0,113
3	0,296	0,231 – 0,360	0,102	0,063 – 0,142
6	0,579	0,525 – 0,633	0,157	0,119 – 0,195
12	0,937	0,923 – 0,950	0,331	0,304 – 0,357

**Рисунок 17.** Линейный график регрессии с 95% доверительным интервалом. Первичное заживление.



**Рисунок 18.** Линейный график регрессии с 95% доверительным интервалом. Полное заживление.



Эти прогностические кривые, основанные на регрессии, расширяют описательные результаты Каплана–Майера, количественно определяя доверительные интервалы и корректируя различия исходных данных. Они подтверждают доказательства того, что терапия фибробластами не только ускоряет, но и стабилизирует заживление ран.

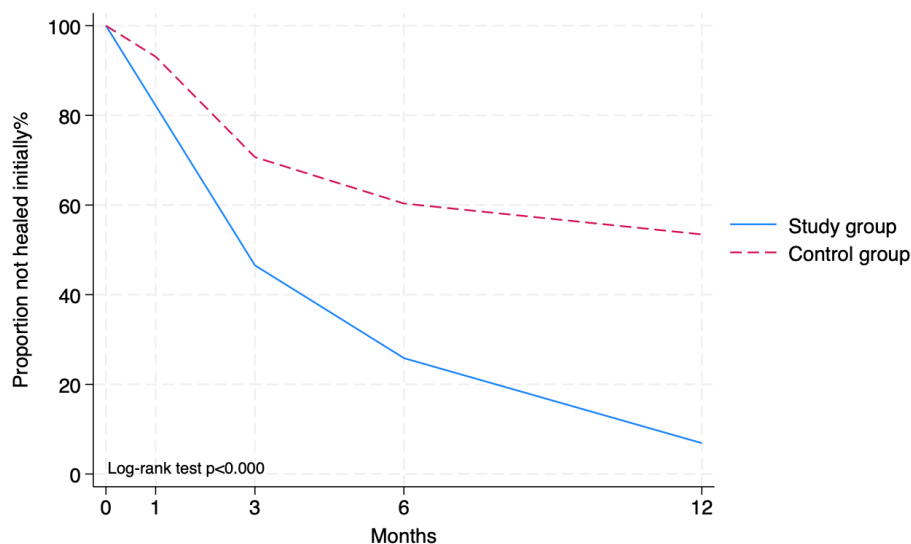
### Анализ Каплана–Майера (с точки зрения времени до события)

Две кривые Каплана–Майера (рисунки 19 и 20) иллюстрируют кумулятивные вероятности первоначального и стойкого заживления. В отличие от средних значений размера ран, эти анализы рассматривают заживление как результат, рассчитанный по времени до наступления события, с учетом цензурирования.

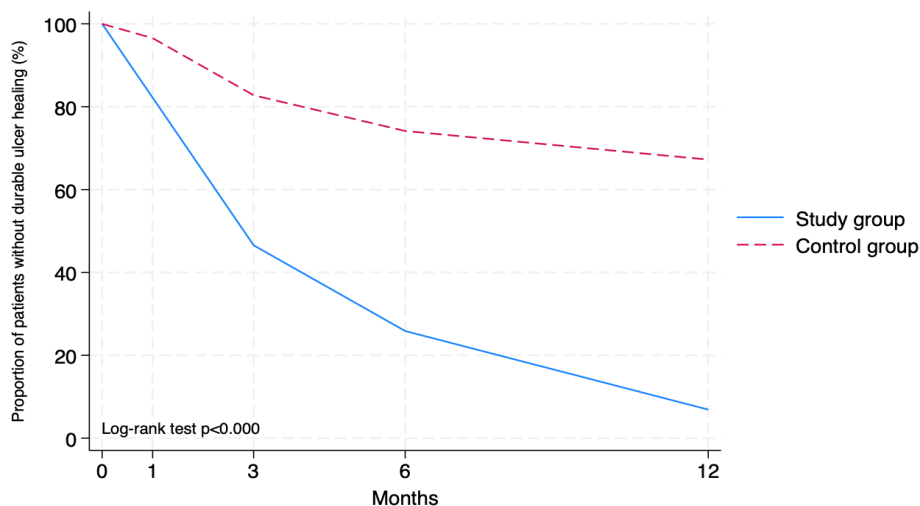
Первичное заживление: к 12 месяцам почти у всех пациентов основной группы было достигнуто первичное заживление (~94%) по сравнению с менее чем половиной пациентов в контрольной группе (~47%).

Полное заживление: разница оказалась ещё более разительной. К 12 месяцам у 94% пациентов, которым проводилась клеточная терапия (аллогенные фибробласты), сохранялось полное заживление, в то время как в контрольной группе этот показатель составлял всего 33%.

**Рисунок 19.** Кривые Каплана–Майера начального заживления в группах



**Рисунок 20.** Кривые КМ длительного заживления в группах



Таким образом, анализ Каплана–Майера важен, поскольку он даёт представление о заживлении раны с точки зрения выживаемости, отражая не только «происходит ли заживление», но и «когда». Он демонстрирует более раннее и надёжное заживление в основной группе.

Анализ исходов проводимого лечения проводился на основании частоты повторных оперативных вмешательств, по количеству малых ампутаций на стопе, а также числу проведенных высоких ампутаций конечностей. Структура исходов лечения в основной и контрольной группах представлена в таблице 17.

Как видно из представленной таблицы, комбинированный метод лечения обеспечил улучшение исходов лечения, где повторные оперативные вмешательства не потребовались в основной группе 45 (77,6%) в контрольной - 34 (58,6%). Количество малых ампутаций на стопе в основной группе составило 11 (19%), в контрольной - 17 (29,3%). Также отмечается снижение числа высоких ампутации конечностей в основной группе - 2 (3,4%) по сравнению с контрольной - 7 (12,1%),  $p = 0,047$ .

Таким образом, при анализе исходов лечения в группе больных, где применялся комбинированный метод лечения, выявлено снижение частоты повторных оперативных вмешательств с 41,4% до 22,4% почти в 2 раза и высоких ампутаций конечности в 3,5 раза.

При анализе сроков пребывания больных в стационаре выявлено что, пациенты основной группы и контрольной группы находились в стационаре  $5,3 \pm 1,2$  койко-дней, что говорит о малотравматичности данного метода лечения не требующего длительной реабилитации. В последующем пациенты проходили амбулаторное лечение, где больные основной группы наблюдались в течении -  $54,6 \pm 3,4$  дней, а контрольной группы -  $91,2 \pm 1,8$  дней, разница в сроках лечения между основной и контрольной группами статистически значима ( $p < 0,001$ ).

**Таблица 17. Структура исходов лечения в основной и контрольной группах**

Исход	Основная группа (n-58)		Контрольная группа (n-58)		p-value
	абс.	%	абс.	%	
Повторные оперативные вмешательства не потребовались	45	77,6	34	58,6	0,047
Малые ампутации на стопе	11	19	17	29,3	
Высокие ампутации конечности	2	3,4	7	12,1	

Полученные непосредственные результаты свидетельствуют, что комбинированный метод лечения путем рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с местным применением аллогенных фибробластов является эффективным способом лечения.

Для оценки отдалённых результатов лечения длительно незаживающих ран на фоне хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей применялась модифицированная шкала Rutherford et al., рекомендованная в качестве стандартизированного инструмента оценки Российским обществом ангиологов и сосудистых хирургов:

Хорошие результаты - характеризовались отсутствием клинических жалоб на протяжении всего периода наблюдения, снижением средней скорости кровотока, индексов пульсации и резистентности не более чем на 10%, уменьшением лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) и транскутанного напряжения кислорода ( $T_{cрO_2}$ ) в пределах 10%, а также частотой повторных госпитализаций менее 50%.

Удовлетворительные результаты - определялись появлением жалоб в период от 2 до 3 лет наблюдения, снижением скорости кровотока, индексов пульсации и резистентности на 10–20%, уменьшением ЛПИ и  $T_{cрO_2}$  на 10–20%, частотой повторных госпитализаций в диапазоне 50–60%, а также необходимостью выполнения повторных малых оперативных вмешательств на стопе.

Неудовлетворительные результаты - устанавливались при появлении жалоб непосредственно после выписки из стационара, выраженном снижении средней скорости кровотока, индексов пульсации и резистентности более чем на 20%, уменьшении ЛПИ и  $T_{cрO_2}$  свыше 20%, частоте повторных госпитализаций более 60%, а также при необходимости выполнения высоких ампутаций конечности.

Оценивая результаты лечения в сравниваемых группах в отдаленном периоде, представленные в таблице 18, нами было выявлено, что после применения комбинированного метода лечения длительно незаживающих ран нижних конечностей хорошие результаты сохранялись у 40 (69%) больных, а в контрольной группе - только у 19 (32,7%). Удовлетворительные результаты лечения отмечались в основной группе у 14 (24,1%) пациентов и в контрольной группе - у 23 (39,7%) больных.

Неудовлетворительные результаты больше всего наблюдалось в контрольной группе после применения консервативного лечения у 16 (27,6%) пациентов и у 4 (6,9%) пациентов в основной группе ( $p < 0,001$ ).

**Таблица 18. Отдаленные результаты лечения в сравниваемых группах**

Показатели	Основная группа (n-58)		Контрольная группа (n-58)		p-value
	абс.	%	абс.	%	
Хорошие	40	69	19	32,7	

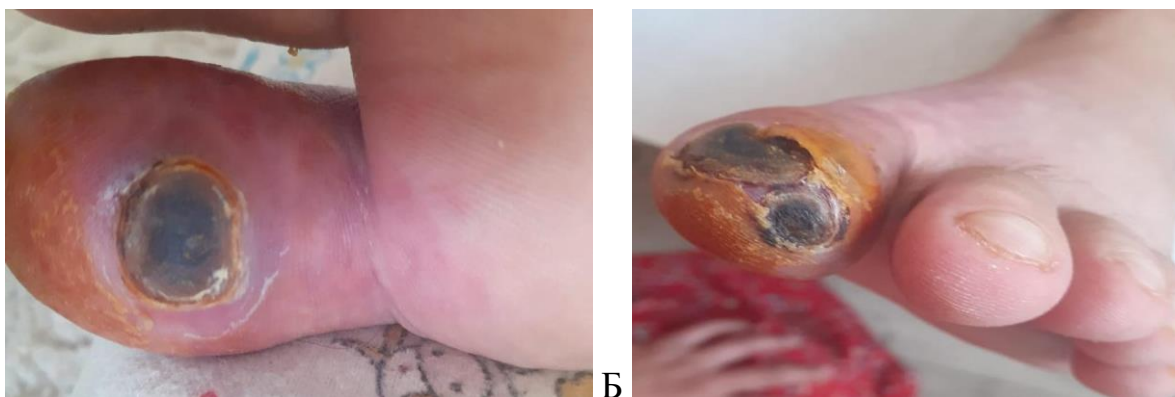
Удовлетворительные	14	24,1	23	39,7	0,00001
Неудовлетворительные	4	6,9	16	27,6	

Для иллюстрации результатов лечения приводим два клинических примера пациентов из основной и контрольной группы.

1. Пациент из основной группы: А., мужчина 65 лет, история болезни №: 288, поступил в клинику 12.01.2023г. с диагнозом: Мультифокальный атеросклероз. Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Стеноз правой общей бедренной артерии – 45%. Стеноз левой общей бедренной артерии – 65%. Стеноз левой подколенной артерии – 46%. Критический стеноз берцовых артерий. Хроническая артериальная недостаточность 2Б стадии. Длительно незаживающая рана I пальца левой стопы с Ноября 2021г. Сопутствующий диагноз: Гипертоническая болезнь II стадии, артериальная гипертензия 3 степени, риск 4. Из анамнеза состоит на учете по поводу артериальной гипертензии в течение 9 лет.

При поступлении состояние средней тяжести. Положение активное. Пульс 76 уд в мин. Артериальное давление 150/90 мм.рт.ст. Локальный статус: обе нижние конечности гипотрофичные, кожные покровы бледные прохладные, волосяной покров отсутствует, I палец левой стопы на уровне средней и дистальной фаланги черного цвета, кожа на стопе гиперемирована, стопа умеренно отечна (*рисунок 21*). Пульсация на бедренных и подколенных артериях ослаблена, а на задней большеберцовой артерии и артерии тыла стопы не определяется.

В условиях перевязочного кабинета под местной анестезией была выполнена хирургическая обработка (санация) раневой поверхности I пальца левой стопы. В ходе вмешательства осуществлен забор биологического материала: мазок с раневой поверхности для последующего бактериологического исследования с определением чувствительности к антибиотикам, а также взят образец ткани для гистологического (патоморфологического) исследования. Одновременно назначена комплексная консервативная терапия, включившая: обезболивающий препарат (Кетотоп 2,0 внутримышечно при болях), сосудистую терапию - Папаверин 2,0 мл на 200,0 мл физиологического раствора + витамины группы В (В6) 2,0 мл.+ никотиновая кислота 2,0мл. внутривенно капельно. Препарат Сулодексид 600 ЛЕ - 1 раз в день, внутримышечно, антикоагулянт прямого действия Клексан 0,4 мл, подкожно 2 раза в день.



**Рисунок 21 (А,Б)** Клиническая картина длительно незаживающей раны 1-го пальца левой стопы. Пациент А., 65 лет, при поступлении.

При обследовании: ОАК от 11.01.2023г.: Нв - 148 г/л; гематокрит – 45,5%, эритроциты -  $4,77 \cdot 10^{12}$ /л; лейкоциты –  $8,4 \cdot 10^9$ /л; тромбоциты -  $425 \cdot 10^9$  /л, СОЭ - 23 мм/ч. ОАМ от 11.01.2023 г: Цвет - с/ж; Прозрачность - прозрачная; Уд.вес - 1020; рН – 5,0; Белок - 0 г/л; лейкоциты – 2 в п/зр, глюкоза– отр, пл. эпит- 3 в п/зр., бактерии- отр. БАК от 11.01.2023 г: Общий белок – 76,2 г/л; Креатинин – 81 мкмоль/л; Мочевина - 8,2 ммоль/л; Билирубин общ. – 6,7 мкмоль/л; АлТ - 44 Ед/л; АсТ - 25,8 Ед/л; Глюкоза - 6,08 ммоль/л; Холестерин - 4,66 ммоль/л. Коагулограмма от 11.01.2023 г: АЧТВ - 33,2 сек.; МНО - 1,01; ПВ – 11,4 сек.; ПИ – 99,01%, фибриноген – 5,0 г/л. Микрореакция от 11.01.2023 г: отрицательно. Кал на я/г от 11.01.2023 г: не обнаружено. ИФА на гепатиты В и С №1030711651 от 15.12.2022 г: отрицательно. ИФА на ВИЧ №98611688 от 11.01.2023 г: отрицательный. Рентгенография ОГК от 12.01.2023г.: Хронический бронхит. Стернотомия. Соч-кардиомегалия. ЭКГ от 10.01.2023 г: Ритм синусовый с ЧСС 75 уд. в мин. Горизонтальное положение ЭОС. Зубец Т 4-6 на изолинии. ЭхоКГ от 23.12.2022 г.: Состояние после АКШ от 2016 г. Аортосклероз. Фиброз и уплотнение стенок аорты, движение створок ограничено. Дилатация полости ЛП. Умеренная гипертрофия стенок МЖП и ЛЖ. Аортальная регургитация 1 ст. Митральная регургитация 1 ст. Трикуспидальная регургитация 1 ст. РСДЛА- 26 мм.рт.ст. Акинез апикально-перегородочного сегмента, гипокинез средне-перегородочного сегмента ЛЖ. Истончение МЖП. Систолическая функция ЛЖ незначительно снижена. ФВ 51%. Признаки незначительно выпота в полости перикарда, расхождение листков перикарда до 0,4\*0,5 мм. Застоя в НПВ нет. ФГДС 13.01.2023 г: Эрозии н/3 пищевода в стадии эпителизации. Недостаточность кардии по Nil-3 степени. Эритематозная дистальная гастропатия.

УЗДГ БЦА от 03.12.2022г.: Атеросклеротические бляшки в сонных артериях с обеих сторон. Пролонгированный стеноз правой ОСА в проксимальной трети 30%. Стеноз правой ОСА в синусе на 32%. Стеноз правой ВСА в истоке 25% (ECST, по диаметру и поперечнике). Пролонгированный стеноз левой ОСА проксимальной трети - 30%. Стеноз ОСА в синусе - 50%(по диаметру в поперечнике). Стеноз в левой ВСА в истоке 34% (ECST, по диаметру и поперечнике). Вертебральное влияние на обе ПА.

УЗДГ артерий нижних конечностей от 12.08.2022г.: Атеросклероз артерии н/к. Стеноз правой ОБА - 45%. Стеноз левой ОБА 65%. Стеноз левой ПКА- 46%. ЛПИ - 0,6. ТрсО<sub>2</sub> - 26 мм.рт.ст.

С учетом результатов бактериологического исследования из раны: *Staphylococcus epidermidis* 10<sup>8</sup>, *Proteus vulgaris* 10<sup>7</sup>, *Proteus mirabilis* 10<sup>2</sup>, назначена антибактериальная терапия.

13.01.2023г. – в условиях ангиографической операционной проведена рентгенэндоваскулярная реваскуляризация с баллонной ангиопластикой бедренной, подколенной и берцовых артерий. В послеоперационном периоде пациенту дважды (через каждые 2 часа) на рану нанесены аллогенные фибробласты (10 мл раствора NaCl 0,9% с клеточной суспензией в концентрации 2×10<sup>6</sup> фибробластов/мл) с полным покрытием раневой поверхности. Ежедневно 2 раза в день (утром и вечером) на рану наносили 10% Метилурациловую мазь. В динамике через 5 дней на фоне проводимой терапии состояние пациента улучшилось, регрессировали боли, некротический процесс на I пальце левой стопы не прогрессировал, рана чистая, патологического отделяемого из раны нет.

УЗДГ артерий нижних конечностей от 17.01.2023г.: Средняя скорость кровотока на ОБА; ПКА; ПББА, ЗББА – 26 см/сек; 20 см/сек; 5 см/сек. Pi - 7,2; 6,5; 6,1 м/с. iR - 0,92; 0,9; 1,5 м/с. ЛПИ - 0,8. ТрсО<sub>2</sub> – 39 мм.рт.ст.

Пациент выписан в удовлетворительном состоянии с рекомендациями на дальнейшее амбулаторное лечение 17.01.2023г. (5 сутки). В условиях амбулатория по месту жительства пациент продолжил лечение согласно рекомендациям. Период амбулаторного наблюдения составил 46 дней (1,5 месяца). Состояние пациента постепенно улучшилось. Рана на I пальце левой стопы эпителизировалась (*рисунок 22*).



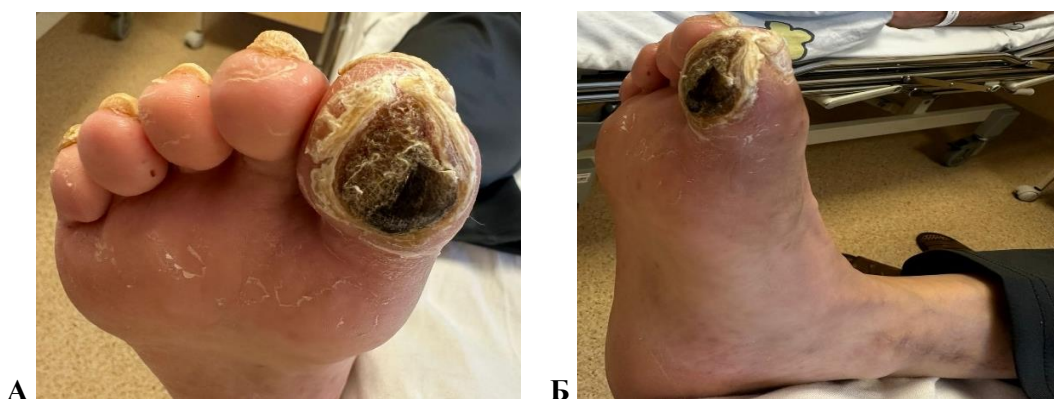
**Рисунок 22** – клиническая картина на 46 сутки после лечения, полностью эпителизованная рана. Пациент А. 65 лет.

На примере представленного клинического наблюдения продемонстрирована высокая эффективность комбинированного метода коррекции раневого процесса. Применение данного подхода у пациента с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей

позволило добиться положительной динамики, благодаря успешной реваскуляризации и локальной стимуляции репаративных процессов, что в итоге привело к полной и стойкой эпителизации раневого дефекта в короткие сроки.

2. Пациент из контрольной группы: М., мужчина 69 лет, история болезни № 478 поступил в клинику 18.01.2023г. с диагнозом: «Мультифокальный атеросклероз. Стеноз бедренно-подколенно-тибиального сегмента с обеих сторон. Хроническая артериальная недостаточность 2Б стадии. Длительно незаживающая рана I пальца правой стопы. Сопутствующий диагноз: ИБС. Кардиомиопатия смешанного генеза (аритмическая, гипертензивная и ишемическая?). Артериальная гипертензия 3 степени, риск ССО очень высокий. ХСН ФК 2-3 (NYHA). Фибрилляция предсердий, постоянная форма, тахисистолический вариант по EHRA 2a. Легочная гипертензия 1 степени. Гиперхолестеринемия. Сахарный диабет 2 типа. Из анамнеза: со слов пациента, болеет с февраля 2022г., когда впервые появилась небольшая рана на подошвенной поверхности I пальца правой стопы размером 0,3см x 0,5см с последующим увеличением и почернением в течение месяца, в связи с чем обратился к амбулаторному хирургу, проведена перевязка, даны рекомендации. Состоит на диспансерном учете по поводу сахарного диабета в течение 16 лет.

При осмотре: состояние средней тяжести. Тоны сердца ритмичные, приглушенные. Артериальное давление 140/90 мм.рт.ст, пульс 82 в минуту. Местный статус: обе конечности бледные, стопы прохладные, мышцы гипотрофичные. На I пальце правой стопы имеется рана размером 3 x 2 см., без признаков заживления, болезненна при пальпации, отмечается умеренный отек стопы. При определении пульсации на бедренных артериях - ослаблена, на подколенных артериях - слабого наполнения, на задней большеберцовой артерии слабо определяется, на артерии тыла стопы пульсация не определяется (рисунок 23 А,Б).



**Рисунок 23(А,Б)** – Длительно незаживающая рана I пальца правой стопы больного М. 69 лет, при поступлении.

При поступлении 18.01.2023г. в условиях перевязочного кабинета выполнена хирургическая обработка раны, взяты: мазок с раневой поверхности для последующего бактериологического исследования с определением чувствительности к антибиотикам, а также образец ткани для гистологического (патоморфологического) исследования из раны. Назначена комплексная консервативная терапия в составе: Фраксипарин (2850МЕ анти-Ха/0,3 мл, раствор для инъекций) 0.3мл подкожно, 1 р/д. 1 д., Натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9% (200 мл, Раствор для инфузий, 0,9%) - 400мл внутривенно, капельно, 2 р/д. 1 д. Цефазолин (1 г, Порошок) 1г Внутривенно + раствор для инфузий 0,9% 5мл., 1 р/д. 1 д. Кворекс (75 мг, Таблетки, покрытые оболочкой), 300мг перорально, 1 р/д. 1 д. Пиридоксина гидрохлорид (Витамин В6), 5% 1 мл, раствор для инъекций+(2мл внутривенно, капельно, 1 р/д. 3 д. Тромбо АСС (100 мг, Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой), 100мг перорально, 1 р/д. 5 д. Церулин (0,5% 2 мл, раствор для инъекций), 2мл внутримышечно, 1 р/д. 1 д. Натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9% 200 мл. внутривенно, капельно.

Лабораторно-диагностические исследования БХАК от 13.01.2023г: глюкоза в сыворотке крови - 14 ммоль/л ; мочевины в сыворотке крови - 4.52 ммоль/л; АЛат - 12.1 МЕ/л; общий белок в сыворотке крови - 68.8 г/л; альбумин в сыворотке крови - 43.9 г/л; прямой билирубин в сыворотке крови - 5.2 мкмоль/л; общий билирубин в сыворотке крови - 12.1 мкмоль/л; АСаТ - 10.3 МЕ/л; калий в сыворотке крови - 4.6 ммоль/л; кальций в сыворотке крови - 1.37 ммоль/л; натрий в сыворотке крови - 144 ммоль/л; холестерин в сыворотке крови - 5.24 ммоль/л; креатинин в крови - 81 мкмоль/л; ЛПНП 4,04 ммоль/л. Коагулограмма от 13.01.2023г: ПВ - 11.6 сек; международное нормализованное отношение (МНО) - 0.96; ПТИ - 104.8%; фибриноген - 4.02 г/л; АЧТВ - 26.2 сек; Примечание: ОАК от 13.01.2023г: лейкоциты в крови - 7.6 /л; эритроциты (RBC) в крови - 5.62 /л; гемоглобин (HGB) в крови - 153 г/л; гематокрит (HCT) в крови - 46.4 %; процентное(%) количество лимфоцитов (LYM%) в крови 27.6 %; процентное (%) количество смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов.(MXD%) в крови - 9.3 %; процентное (%) количество нейтрофилов (NEUT%) в крови - 63.1 %; абсолютное количество лимфоцитов (LYM#) в крови - 2.1 /л;

УЗДГ брахиоцефального ствола (13.01.2023 10:35) Заключение: Атеросклероз БЦА. Стеноз ВСА до 30% по диаметру с обеих сторон, гемодинамически незначимые. Извитой ход обеих ПА. Электрокардиографическое исследование (в 12 отведениях) с расшифровкой (13.01.2023 10:35) Заключение: Фибрилляция предсердий с ЧСС 91 уд в мин. ЭОС отклонена влево. Блокада передней ветви левой ножки п.Гиса. Эхокардиография (13.01.2023 10:35) Заключение: Исследование на фоне ФП. Аортосклероз. АР мин. Дилатация полостей предсердий. Глобальная сократимость ЛЖ снижена умеренно. Диффузный гипокинез всех сегментов. МР 1 ст. ТР мин. РСДЛА 31 мм.рт.ст. ЛГ 1 ст. Выпота в перикарде нет. УЗИ почек и надпочечников (13.01.2023 10:35) Заключение: Диффузные изменения паренхимы почек по хроническому типу. Очаговых изменений почек и надпочечников не выявлено.

УЗДГ вен нижних конечностей (13.01.2023) Заключение: Данных за тромбоз вен нижних конечностей не выявлено. Эктазия обеих БПВ на голени без признаков тромбоза.

УЗДГ артерий нижних конечностей (13.01.2023) Заключение: Выраженный атеросклероз артерий нижних конечностей. Коллатеральный кровоток в ПКА, ПББА и ЗББА справа. АТС справа не определяется. Показатели доплерографии: Минимальная скорость кровотока на ОБА; ПКА; 16 см/сек; 14,1 см/сек; 2,3 см/сек. Pi - 3,3; 2,1; 3,3 м/с. iR - 1,02; 0,9; 1,1 м/с. ЛПИ - 0,3. ТрсО<sub>2</sub> - 12 мм.рт.ст.

При бактериологическом исследовании из раны высеяны: *Staphylococcus aureus* 10<sup>8</sup>, *Streptococcus pyogenes* 10<sup>6</sup>, *Proteus mirabilis* 10<sup>3</sup>. Назначена антибактериальная терапия.

Ежедневно пациенту проводилась традиционная хирургическая обработка раны в условиях перевязочного кабинета с использованием антисептиков Хлоргексидина биглюконат 0,05% и 1% повидон-йода.

19.01.2023г. – в условиях ангиографической операционной проведена рентгенэндоваскулярная реваскуляризация пораженных сосудов правой нижней конечности. В послеоперационном периоде на фоне проводимой консервативной терапии состояние пациента улучшилось, пациент отметил снижение болей в правой стопе и незначительное потепление правой конечности.

УЗДГ исследование в динамике от 23.01.2023: средняя скорость кровотока на ОБА; ПКА; ПББА - 24,3 см/сек; 17,8 см/сек; 7,1 см/сек. Pi- 4,0; 3,2; 4,3 м/с. iR - 0,82; 1,6; 1,2 м/с. ЛПИ - 0,5. ТрсО<sub>2</sub> -21 мм.рт.ст.

Пациент 24.01.2023г. выписан в удовлетворительном состоянии на амбулаторное лечение, при этом продолжительность стационарного лечения составила 6 койко-дней, сроки амбулаторного лечения 3 месяца (рисунок 24 А,Б).



**Рисунок 24 (А,Б)** – клинический результат заживления ран у больного М. 69 лет на 93 сутки после операции.

У пациента основной группы после применения комбинированного метода лечения, включающего рентгенэндоваскулярную реканализацию с локальным применением аллогенных фибробластов, отмечается более выраженное ускорение репаративных процессов и тканевой регенерации. В то же время у пациента контрольной группы, получавшего рентгенэндоваскулярную реканализацию в сочетании с традиционной хирургической обработкой раны, процессы заживления носили менее выраженный характер, рана заживала грубо, что проявлялось в недостаточном формировании грануляционной ткани, ее узловатом и негладком характере. Дефект заживления характеризовался выраженной гипертрофией и образованием рубцов, что указывало на нарушение нормальных каскадов заживления. Полученные данные свидетельствуют о более высокой эффективности комбинированного подхода, обеспечившего ускоренную репарацию тканей и качественное заживление хронического раневого дефекта по сравнению с больным из контрольной группы.

Таким образом, сочетание рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с локальным применением аллогенных фибробластов в комплексе лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей снижает с момента выписки выраженность болевых ощущений в области длительно незаживающих ран ( $5,68 \pm 1,55$  против  $6,43 \pm 1,77$  балла,  $p = 0,016$ ), уменьшает частоту повторных хирургических вмешательств с 41,4% до 22,4% и высоких ампутаций с 12,1% до 3,4% ( $p=0,047$ ), тем самым сокращая сроки лечения в 2 раза ( $p<0,05$ ) по сравнению с контрольной группой и как результат летальности среди пациентов с облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей.

#### 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Длительно незаживающие раны при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей представляют собой сложную мультифакториальную клиническую проблему, требующую комплексного патогенетически обоснованного подхода к лечению [1, 2]. Несмотря на значительный прогресс в развитии методов реваскуляризации и совершенствование консервативной терапии, результаты лечения данной категории пациентов остаются неудовлетворительными, что обуславливает актуальность поиска новых эффективных терапевтических стратегий [7, 8, 9].

Для определения клинической эффективности и преимуществ предложенного комбинированного метода коррекции раневого процесса нами было проведено рандомизированное контролируемое исследование, где объектом исследования явились 116 пациентов с длительно незаживающими ранами, обусловленными хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей. Все пациенты были распределены на две группы в зависимости от применяемого метода лечения: основная группа — включала 58 пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей и длительно незаживающими ранами, которым была выполнена рентгенэндоваскулярная реваскуляризация в сочетании с местным применением аллогенных фибробластов и контрольная группа — из 58 пациентов, которым также была проведена рентгенэндоваскулярная реваскуляризация, однако в послеоперационном периоде использовались традиционные методы хирургической обработки. Ключевым требованием к сравнительным исследованиям является однородность исследуемых групп. Поэтому до начала лечебного вмешательства была выполнена оценка сопоставимости пациентов основной и контрольной групп. Проведенный статистический анализ подтвердил отсутствие значимых различий по основным клинико-демографическим признакам и степени тяжести хронической ишемии нижних конечностей. Установленная однородность минимизирует влияние смешивающих факторов, что позволяет с высокой степенью достоверности интерпретировать последующие различия в исходах.

Результаты настоящего исследования убедительно демонстрируют, что изолированное восстановление магистрального кровотока, хотя и является необходимым условием заживления, не всегда обеспечивает оптимальные темпы репарации тканей. Как показали наши данные, в обеих исследуемых группах после успешной рентгенэндоваскулярной реваскуляризации наблюдалось сопоставимое улучшение показателей регионарной гемодинамики: лодыжечно-плечевой индекс возрастал с критических значений 0,41 - 0,42 до нормальных показателей 0,89–0,91 в раннем послеоперационном периоде с последующей стабилизацией на уровне 1,01–1,05 в течение всего периода наблюдения. Аналогичная динамика отмечалась и в отношении транскутанного парциального напряжения кислорода, которое увеличивалось с исходных 40,6–

40,7 мм рт.ст. до 59,1–59,6 мм рт.ст. после реваскуляризации и прогрессивно нарастало до 90,5–92,2 мм рт.ст. к 12 месяцам наблюдения.

Полученные результаты согласуются с данными масштабных рандомизированных исследований и современными рекомендациями по ведению пациентов с критической ишемией конечностей [4, 5]. Работа Farber A. в исследовании BEST-CLI продемонстрировала высокую эффективность как эндоваскулярных, так и открытых методов реваскуляризации в отношении восстановления магистрального кровотока [113]. Однако наше исследование показало, что несмотря на сопоставимое улучшение макрогемодинамических параметров в обеих группах, темпы заживления длительно незаживающих ран существенно различались, что указывает на критическую роль локальных тканевых факторов в процессах репарации.

Примечательно, что в контрольной группе показатели транскутанного парциального давления кислорода были даже несколько выше по сравнению с основной группой на поздних этапах наблюдения (92,2 против 90,5 мм рт.ст. через 12 месяцев,  $p=0,001$ ), что подтверждает гипотезу о том, что терапевтический эффект локального применения аллогенных фибробластов обусловлен не влиянием на системную перфузию, а специфическим воздействием на микроокружение раны через паракринные механизмы.

Результаты морфологического исследования биоптатов из ран предоставили убедительные доказательства многокомпонентного механизма терапевтического действия трансплантированных аллогенных фибробластов. Уже на ранних сроках (7 дней) после начала клеточной терапии в основной группе наблюдалась качественно иная картина раневого процесса по сравнению с контрольной группой.

В то время как в контрольной группе на 7-е сутки доминировали обширные участки тканевого детрита с массивной нейтрофильной инфильтрацией, характеризующие затяжную воспалительную фазу, в основной группе уже отмечались признаки формирования грануляционной ткани с активной пролиферацией фибробластов и начальным неоангиогенезом. Данные наблюдения согласуются с современными представлениями о том, что одним из ключевых патогенетических механизмов хронизации ран при критической ишемии является персистенция провоспалительного фенотипа с неспособностью к физиологическому переходу в пролиферативную фазу заживления.

К 14-му дню различия между группами становились еще более выраженными. В основной группе грануляционная ткань занимала значительную часть раневой поверхности, демонстрируя признаки зрелости с выраженной активностью фибробластов, интенсивным синтезом межклеточного матрикса и хорошо развитой сосудистой сетью. Напротив, в контрольной группе сохранялась полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация при отсутствии признаков формирования зрелой грануляционной ткани и полноценного коллагенообразования.

Механизм ускоренного заживления при применении аллогенных фибробластов, по-видимому, реализуется через несколько взаимосвязанных

путей. Во-первых, трансплантированные клетки секретируют широкий спектр факторов роста и цитокинов, включая васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) и основной фактор роста фибробластов (bFGF), которые стимулируют ангиогенез, пролиферацию клеток и синтез внеклеточного матрикса.

Во-вторых, фибробласты участвуют в ремоделировании внеклеточного матрикса через регуляцию баланса между синтезом коллагена и его деградацией матриксными металлопротеиназами. Большинство авторов подчеркивают критическую роль дермальных фибробластов в формировании и организации внеклеточного матрикса в процессе заживления ран.

В-третьих, секретируемые фибробластами факторы стимулируют пролиферацию и миграцию кератиноцитов, что способствует ускорению эпителизации. Современные исследования демонстрируют выраженную гетерогенность популяций фибробластов и их специфические роли в различных фазах заживления ран [14, 15, 136].

Клинические данные о динамике заживления ран полностью подтверждают результаты морфологического исследования. Уже к моменту выписки из стационара (в среднем на 7-е сутки) в основной группе наблюдалось исчезновение инфильтрации краев раны на  $5,9 \pm 0,5$  суток быстрее ( $p < 0,01$ ), появление грануляций на  $4,8 \pm 0,6$  суток раньше ( $p < 0,01$ ) и начало эпителизации на  $7,7 \pm 0,7$  суток раньше ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой.

Наиболее впечатляющие различия между группами были получены при анализе динамики площади раневых дефектов. Хотя исходно размер ран в основной группе был несколько больше ( $8,7 \pm 8,5$  см<sup>2</sup> против  $6,8 \pm 6,2$  см<sup>2</sup>), что создавало потенциально менее благоприятные условия для заживления, к 3 месяцам наблюдения отмечалось драматическое уменьшение площади ран до  $0,9 \pm 2,5$  см<sup>2</sup> по сравнению с  $3,3 \pm 4,1$  см<sup>2</sup> в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). Эта тенденция прогрессивно нарастала, и к 12 месяцам в основной группе достигалось практически полное заживление ( $0,1 \pm 0,1$  см<sup>2</sup>), в то время как в контрольной группе средний размер ран сохранялся на уровне  $3,5 \pm 4,4$  см<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ).

Результаты смешанной линейной модели регрессии, учитывающей повторные измерения у одних и тех же пациентов и корректирующей влияние ковариат, продемонстрировали статистически значимое взаимодействие между фактором группы и временем наблюдения. Уже через 1 месяц раны в контрольной группе были на  $1,67$  см<sup>2</sup> больше, чем в основной группе (95% ДИ: 0,08; 3,27,  $p = 0,040$ ), а к 12 месяцам эта разница достигла  $5,33$  см<sup>2</sup> (95% ДИ: 3,75; 6,92,  $p < 0,001$ ). Важно отметить, что возраст, пол, наличие сахарного диабета и курение не оказывали статистически значимого влияния на результаты заживления, что подчеркивает независимый эффект применения аллогенных фибробластов.

Полученные нами данные о почти четырехкратном уменьшении ран через 3 месяца и девятикратном уменьшении через 6 месяцев в группе с применением аллогенных фибробластов существенно превосходят результаты,

представленные в литературе для стандартных методов лечения. Так, в исследовании посвященном применению культивированных фибробластов (препарат Dermagraft) при хронических ранах, были продемонстрированы обнадеживающие результаты, однако темпы заживления были менее впечатляющими [151].

Stone R.C. в исследовании, опубликованном в Science Translational Medicine, показали, что биоинженерные живые клеточные конструкторы активируют острый ответ заживления в хронических язвах ног [155]. Наши результаты демонстрируют более выраженный эффект, что может быть обусловлено комбинированным подходом с обязательной предварительной реваскуляризацией.

Анализ выживаемости методом Каплана-Майера показал, что к 12 месяцам наблюдения первичное заживление было достигнуто у 93,7% пациентов основной группы против 47% в контрольной группе, а полное заживление сохранялось у 93,7% против 33% соответственно. Эти результаты согласуются с данными систематических обзоров, подчеркивающих критическую важность адекватного кровоснабжения для эффективности клеточной терапии.

Важным аспектом клинической эффективности комбинированного метода явилось его влияние на выраженность болевого синдрома. Хотя в раннем послеоперационном периоде уровень боли был сопоставим в обеих группах (что ожидаемо, учитывая эффект реваскуляризации), уже к моменту выписки отмечались статистически значимые различия:  $5,68 \pm 1,55$  балла в основной группе против  $6,43 \pm 1,77$  балла в контрольной ( $p=0,016$ ). Эти различия нарастали к 3 месяцам ( $4,38 \pm 1,81$  против  $5,26 \pm 1,82$ ,  $p=0,010$ ) и 6 месяцам ( $4,27 \pm 1,91$  против  $5,36 \pm 1,99$ ,  $p=0,003$ ).

Механизм более выраженного снижения болевого синдрома при применении аллогенных фибробластов, вероятно, связан с несколькими факторами. Во-первых, ускоренное заживление раны само по себе способствует уменьшению хронического воспаления и связанной с ним боли. Во-вторых, секретируемые фибробластами противовоспалительные цитокины могут непосредственно модулировать болевую чувствительность через влияние на нейрогенное воспаление. В-третьих, улучшение микроциркуляции в области раны способствует более эффективному удалению аллогенных медиаторов. Эти данные имеют важное практическое значение, учитывая, что болевой синдром является одним из наиболее значимых факторов, снижающих качество жизни пациентов с длительно незаживающими ранами.

Применение комбинированного метода лечения привело к существенному улучшению клинических исходов. Частота повторных хирургических вмешательств снизилась с 41,4% в контрольной группе до 22,4% в основной ( $p<0,05$ ), количество малых ампутаций на стопе уменьшилось с 29,3% до 19%, а частота высоких ампутаций конечностей сократилась с 12,1% до 3,4%.

Эти результаты имеют критическое клиническое и социально-экономическое значение. По данным эпидемиологических исследований, ампутация нижней конечности при ХОЗАНК ассоциирована с существенным снижением качества жизни, высокой летальностью (30-50% в течение 5 лет

после высокой ампутации) и значительными экономическими затратами. Kristensen M.T. et al. продемонстрировали, что выживаемость после больших ампутаций нижних конечностей у пациентов с периферическим атеросклерозом и сахарным диабетом остается неудовлетворительной [9, 156]. Robinson W.P. et al. показали, что функциональные исходы и выживаемость после больших ампутаций у пациентов с критической ишемией конечностей значительно хуже, чем при успешной реваскуляризации [157].

Снижение частоты высоких ампутаций с 12,1% до 3,4% представляется клинически значимым достижением, особенно учитывая тяжесть исходного состояния пациентов с длительно незаживающими ранами и критической ишемией. Наши данные согласуются с результатами исследования Torbjörnsson E. et al., которые выявили факторы риска повторных ампутаций после реваскуляризации [158].

Анализ отдаленных результатов (в среднем 12 месяцев наблюдения) показал, что в основной группе хорошие результаты сохранялись у 69% пациентов против 32,7% в контрольной группе, удовлетворительные — у 24,1% против 39,7%, а неудовлетворительные результаты наблюдались только у 6,9% против 27,6% соответственно. Эти данные свидетельствуют не только о краткосрочной эффективности метода, но и о стойкости достигнутого терапевтического эффекта.

Важным практическим аспектом является влияние комбинированного метода на сроки лечения. Хотя продолжительность стационарного этапа была сопоставимой в обеих группах ( $5,3 \pm 1,2$  койко-дней), что отражает малоинвазивность эндоваскулярного подхода, сроки амбулаторного лечения существенно различались:  $54,6 \pm 3,4$  дня в основной группе против  $91,2 \pm 1,8$  дня в контрольной ( $p < 0,001$ ). Сокращение общей продолжительности лечения более чем в 1,5 раза имеет очевидные экономические преимущества.

По данным Nussbaum S.R. et al., хронические незаживающие раны представляют собой значительное экономическое бремя для системы здравоохранения [31]. Guest J.F. et al. (2020) в когортном исследовании продемонстрировали существенное бремя ран для Национальной службы здравоохранения Великобритании [159]. Хотя формальный фармакоэкономический анализ с учетом стоимости культивирования аллогенных фибробластов требует отдельного исследования, сокращение сроков лечения и снижение частоты ампутаций предполагают потенциальную экономическую эффективность метода.

Сопоставление полученных результатов с данными международных исследований показывает, что наш подход обладает рядом уникальных особенностей. В большинстве опубликованных работ по клеточной терапии длительно незаживающих ран применялись либо аутологичные фибробласты (что требует инвазивной биопсии кожи пациента и длительного культивирования), либо готовые коммерческие препараты, такие как Dermagraft или Apligraf [151, 152].

Shi R. et al. исследовали локализацию адипозных стволовых клеток человека и их эффект в репарации диабетических язв стопы у крыс [160]. Scatena A. et al.

изучали аутологичные моноклеарные клетки периферической крови для сохранения конечности у пациентов с диабетической стопой и критической ишемией без опций реваскуляризации [161]. Dubský M. et al. сравнивали влияние аутологичной клеточной терапии и стандартного консервативного лечения на оксигенацию тканей [162].

Наш подход, основанный на использовании аллогенных фибробластов, заготовленных заблаговременно, обладает очевидными логистическими преимуществами, обеспечивая немедленную доступность клеточного продукта. Это согласуется с современными тенденциями в регенеративной медицине, направленными на создание стандартизированных, готовых к применению клеточных продуктов.

Критически важным отличием нашего исследования является систематическое применение предварительной реваскуляризации у всех пациентов. Как справедливо подчеркивают современные рекомендации и систематические обзоры, эффективность клеточной терапии критически зависит от адекватного кровоснабжения тканей. Forsythe R.O. et al. в систематическом обзоре продемонстрировали эффективность реваскуляризации у пациентов с диабетом и периферическим атеросклерозом [163].

Однако в большинстве предшествующих исследований реваскуляризация не была обязательным компонентом протокола, что могло снижать эффективность клеточной терапии. Наш комбинированный подход, сочетающий восстановление магистрального кровотока с локальной стимуляцией репаративных процессов, представляется патогенетически наиболее обоснованным и согласуется с современными представлениями о многофакторной природе нарушений заживления при критической ишемии.

Успех рентгенэндоваскулярной реваскуляризации в нашем исследовании подтверждает данные современных исследований о высокой эффективности и безопасности эндоваскулярных методов лечения критической ишемии конечностей.

Beckman J.A. et al. в обзоре, опубликованном в *Circulation Research*, подчеркивают значительные достижения в реваскуляризации при периферическом атеросклерозе [164]. Shu H. et al. в систематическом обзоре и мета-анализе продемонстрировали, что эндоваскулярная реваскуляризация и открытая хирургическая реваскуляризация имеют сопоставимую эффективность у пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей [165].

Важно отметить, что в нашем исследовании успешная реваскуляризация была достигнута у всех 116 пациентов, что отражает как тщательный отбор пациентов, так и высокий уровень технического выполнения процедур. Это согласуется с данными Almasri J. et al., показавшими в систематическом обзоре высокие показатели технического успеха современных методов реваскуляризации при инфраингвинальной критической ишемии [166].

Малоинвазивность эндоваскулярного подхода, подтверждаемая короткими сроками стационарного лечения ( $5,3 \pm 1,2$  койко-дней), особенно важна для пациентов с множественной сопутствующей патологией, которая характерна для больных с критической ишемией конечностей.

При интерпретации результатов необходимо учитывать определенные ограничения проведенного исследования. Во-первых, относительно небольшой размер выборки (58 пациентов в каждой группе) не позволяет проводить детальный подгрупповой анализ для выявления предикторов особенно хорошего или плохого ответа на терапию. Необходимы более масштабные многоцентровые исследования для подтверждения полученных результатов и определения оптимальных показаний к применению метода.

Во-вторых, хотя период наблюдения в 12 месяцев является достаточным для оценки непосредственных и среднесрочных результатов, более длительное наблюдение необходимо для оценки истинной долгосрочной эффективности и частоты рецидивов язвенных поражений. Martinengo L. et al. в систематическом обзоре подчеркивают, что хронические раны характеризуются высокой частотой рецидивов, требующей длительного мониторинга [32].

В-третьих, механизмы терапевтического действия аллогенных фибробластов в нашем исследовании были изучены преимущественно с помощью морфологических методов. Хотя полученные данные убедительно демонстрируют ускорение репаративных процессов, детальное изучение молекулярных механизмов, включающее количественную оценку секретируемых факторов роста, анализ экспрессии генов и протеомные исследования, представляется важным направлением дальнейших исследований. Современные работы по изучению гетерогенности фибробластов и их молекулярных профилей указывают на перспективность такого подхода.

В-четвертых, в данном исследовании не проводилось детальное изучение иммунологических аспектов применения аллогенных клеток. Хотя клинические результаты не выявили признаков иммунного отторжения или других неблагоприятных реакций, систематическое изучение иммунного ответа на трансплантированные фибробласты с оценкой уровня антител и клеточного иммунитета было бы ценным дополнением.

Таким образом, результаты проведенного исследования убедительно демонстрируют высокую клиническую эффективность комбинированного метода лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей, включающего рентгенэндоваскулярную реваскуляризацию и локальное применение аллогенных фибробластов. Метод обеспечивает сокращение сроков первичного заживления с 3,5 до 2,5 месяцев и полного заживления с 6 до 5 месяцев, снижение частоты малых ампутаций на 35% и высоких ампутаций на 72%, а также улучшение отдаленных результатов лечения с достижением хороших и удовлетворительных исходов у 93,1% пациентов против 67,1% в контрольной группе.

Патогенетическое обоснование эффективности метода базируется на комплексном воздействии на ключевые звенья нарушенного раневого процесса: восстановление магистрального кровотока обеспечивает необходимую тканевую перфузию, в то время как локальное применение аллогенных фибробластов стимулирует ангиогенез, синтез внеклеточного матрикса и эпителизацию через паракринные механизмы. Морфологические данные

убедительно демонстрируют ускоренный переход от воспалительной к пролиферативной фазе заживления и формирование полноценной грануляционной ткани при применении клеточной терапии.

Полученные результаты открывают новые перспективы в лечении одной из наиболее сложных категорий пациентов сосудистой хирургии и позволяют рекомендовать комбинированный метод для внедрения в широкую клиническую практику при условии наличия необходимой технической и организационной базы для культивирования и применения клеточных продуктов. Дальнейшие исследования должны быть направлены на оптимизацию протоколов клеточной терапии, изучение долгосрочных результатов и определение конкретных групп пациентов, которые получают максимальную пользу от данного инновационного подхода.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на результатах проведённого исследования сформированы следующие выводы.

1. Разработанный комбинированный метод лечения длительно незаживающих ран у пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей, основанный на сочетании рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с локальным применением аллогенных фибробластов является обоснованным и клинически высокоэффективным способом коррекции раневого процесса при данной патологии.
2. Локальное применение аллогенных фибробластов в сочетании с рентгенэндоваскулярной реваскуляризацией в лечении длительно незаживающих ран нижних конечностей существенно улучшает течение местного репаративного процесса, что проявляется сокращением воспалительной фазы, активацией пролиферации и ремоделирования тканей, тем самым способствует четырёхкратному уменьшению ран через 3 месяца (средний размер раны составил 0,9 см<sup>2</sup> по сравнению с 3,3 см<sup>2</sup> в контрольной группе ( $p < 0,001$ ); через 6 месяцев в 9 раз — 0,4 см<sup>2</sup> против 3,5 см<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ); и через 12 месяцев — почти полное заживление (0,1 см<sup>2</sup>) по сравнению с контрольной группы -3,5 см<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ).
3. Сочетание рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с локальным применением аллогенных фибробластов в комплексе лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей снижает с момента выписки выраженность болевых ощущений в области длительно незаживающих ран ( $5,68 \pm 1,55$  против  $6,43 \pm 1,77$  балла,  $p = 0,016$ ), уменьшает частоту повторных хирургических вмешательств с 41,4% до 22,4% и высоких ампутаций конечности с 12,1% до 3,4% ( $p = 0,047$ ), сокращает сроки лечения в 2 раза по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).
4. Применение разработанного комбинированного метода лечения длительно незаживающих ран при хронических облитерирующих заболеваниях артерий нижних конечностей позволяет в отдалённом периоде получить хорошие и удовлетворительные результаты у 69% и 24,1% больных соответственно и снизить количество больных с неудовлетворительными результатами с 27,6% до 6,9% ( $p < 0,001$ ).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При длительно незаживающих ранах у больных с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей методом выбора может быть сочетание рентгенэндоваскулярной реваскуляризации с локальным применением аллогенных фибробластов. Использовать аллогенные фибробласты подготовленные в условиях специализированной лаборатории необходимо в течение 2–4 часов после приготовления для сохранения оптимальной их жизнеспособности.
2. Нанесение аллогенных фибробластов следует проводить методом аэрозольного распыления на очищенную раневую поверхность с расстояния 10–15 см, для равномерного покрытия всей площади дефекта, двукратно с периодичностью 2 часа.
3. Динамический контроль эффективности лечения необходимо осуществлять с оценкой площади раны. После предварительной обработки раневой поверхности и обеспечения доступа ко всем ее границам, первичное измерение необходимо выполнять обычной сантиметровой линейкой, далее рану покрывают стерильным, прозрачным медицинским полиэтиленом (*пленка*) используемый в хирургической практике для фиксации повязки при перевязки ран с последующим обведением контуров раны по периметру с фотофиксацией (цифровой фотодокументации), с последующим анализом в специализированном мобильном приложении LesionMeter, которое автоматически высчитывает площадь раны и выдает результат на экране. Состояния грануляций и степени эпителизации оценивают на 7, 14, 30, 90 сутки. Выраженность болевого синдрома по 10 бальной визуальной аналоговой шкале отмечают до операции, через 24 часа после операции, при выписке, через 3, 6, 12 месяцев.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Смирнов К.В., Макаров С.А. Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей. *Врач.* 2021; 32 (10): 28–35. <https://doi.org/10.29296/25877305-2021-10-05>
2. Григорьева А.И. Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей. Современное амбулаторное лечение. *Московский хирургический журнал*, осень 2022. Спецвыпуск. С. 43-51 <https://doi.org/10.17238/2072-3180-2022-43-51>
3. Fowkes FG, Rudan D, Rudan I, et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. *Lancet* 2013;382(9901):1329-40.
4. Gornik HL, Aronow HD, Goodney PP, Arya S, Brewster LP, Byrd L, et al; Peer Review Committee Members. 2024 ACC/AHA/AACVPR/APMA/ABC/SCAI/SVM/SVN/SVS/SIR/VESS Guideline for the Management of Lower Extremity Peripheral Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2024 Jun 11;149(24):e1313-e1410. doi: 10.1161/CIR.0000000000001251. Epub 2024 May 14. Erratum in: *Circulation.* 2025 Apr 8;151(14):e918. doi: 10.1161/CIR.0000000000001329. PMID: 38743805; PMCID: PMC12782132.
5. Mazzolai L, Teixido-Tura G, Lanzi S, Boc V, Bossone E. et al; ESC Scientific Document Group. 2024 ESC Guidelines for the management of peripheral arterial and aortic diseases. *Eur Heart J.* 2024 Sep 29;45(36):3538-3700. doi: 10.1093/eurheartj/ehae179. PMID: 39210722.
6. Potekaev NN, Frigo NV, Michenko AV, Lvov AN, Panteleev AA, Kitaeva NV. Chronic indolent ulcers and wounds of the skin and subcutaneous tissue. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology=Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya.* 2018;17(6):7-12. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/klinderma2018170617>
7. Sen CK. Human Wound and Its Burden: Updated 2025 Compendium of Estimates. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2025 Sep;14(9):429-438. doi: 10.1177/21621918251359554. Epub 2025 Jul 14. PMID: 40660772.
8. Redmond MC, Gethin G, Finn DP. A Review of Chronic Wounds and Their Impact on Negative Affect, Cognition, and Quality of Life. *Int Wound J.* 2025 Aug;22(8):e70748. doi: 10.1111/iwj.70748. PMID: 40819659; PMCID: PMC12358188.
9. Beeson SA, Neubauer D, Calvo R, Sise M, Martin M, Kauvar DS, Reid CM. Analysis of 5-year Mortality following Lower Extremity Amputation due to Vascular Disease. *Plast Reconstr Surg Glob Open.* 2023 Jan 11;11(1):e4727. doi: 10.1097/GOX.0000000000004727. PMID: 36699221; PMCID: PMC9833438.
10. Armstrong D.G., Boulton A.J.M., Bus S.A. Diabetic foot ulcers and their recurrence // *New England Journal of Medicine.* — 2017. — T. 376, № 24. — С. 2367–2375. — DOI: 10.1056/NEJMra1615439.
11. Tarricone A, Gee A, de la Mata K, Rogers L, Wiley J, Lavery LA, Krishnan P.

Outcomes for Patients With Chronic Limb-Threatening Ischemia After Direct and Indirect Endovascular and Surgical Revascularization: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Endovasc Ther.* 2026 Feb;33(1):56-63. doi: 10.1177/15266028241248524. Epub 2024 Apr 30. PMID: 38687701; PMCID: PMC12804421.

12. Siracuse JJ, Farber A, Menard MT, Conte MS, Kaufman JA, Jaff M, Kiang SC, Ochoa Char CI, Osborne N, Singh N, Tan TW, Guzman RJ, Strong MB, Hamza TH, Doros G, Rosenfield K. Perioperative complications following open or endovascular revascularization for chronic limb-threatening ischemia in the BEST-CLI Trial. *J Vasc Surg.* 2023 Oct;78(4):1012-1020.e2. doi: 10.1016/j.jvs.2023.05.040. Epub 2023 Jun 14. PMID: 37318428.

13. Antonopoulos CN, Lazaris A, Venermo M, Geroulakos G. Predictors of Wound Healing Following Revascularization for Chronic Limb-Threatening Ischemia. *Vasc Endovascular Surg.* 2019 Nov;53(8):649-657. doi: 10.1177/1538574419868863. Epub 2019 Aug 12. PMID: 31405350.

14. Rahnema M, Ghasemzadeh N, Ebrahimi Y, Golchin A. A comprehensive evaluation of dermal fibroblast therapy in clinical trials for treating skin disorders and cosmetic applications: a scoping review. *Stem Cell Res Ther.* 2024 Sep 20;15(1):318. doi: 10.1186/s13287-024-03892-0. PMID: 39304949; PMCID: PMC11416016.

15. Cialdai F, Risaliti C, Monici M. Role of fibroblasts in wound healing and tissue remodeling on Earth and in space. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022 Oct 4;10:958381. doi: 10.3389/fbioe.2022.958381. PMID: 36267456; PMCID: PMC9578548.

16. Voza FA, Huerta CT, Le N, Shao H, Ribieras A, Ortiz Y, Atkinson C, Machuca T, Liu ZJ, Velazquez OC. Fibroblasts in Diabetic Foot Ulcers. *Int J Mol Sci.* 2024 Feb 11;25(4):2172. doi: 10.3390/ijms25042172. PMID: 38396848; PMCID: PMC10889208.

17. Liu Y, Liu Y, He W, Mu X, Wu X, Deng J, Nie X. Fibroblasts: Immunomodulatory factors in refractory diabetic wound healing. *Front Immunol.* 2022 Aug 5;13:918223. doi: 10.3389/fimmu.2022.918223. PMID: 35990622; PMCID: PMC9391070.

18. Карпин В. А., Мельникова Е. Н., Гудков А. Б., Попова О. Н. Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей на Севере (обзор литературы). *Экология человека.* 2017. № 8. С. 37–43.

19. Кошкин В. М., Сергеева Н. А., Кузнецов М. Р., Наставшева О. Д. Консервативная терапия у больных хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Современные представления. *Журнал Медицинский совет* 2015г. №8 стр. 6–9.

20. Fu M, Zhang H. Global burden of peripheral arterial disease and its risk factors, 1990-2021. *BMC Cardiovasc Disord.* 2025 Aug 26;25(1):631. doi: 10.1186/s12872-025-05055-2. PMID: 40859165; PMCID: PMC12379400.

21. Bethel M, Annex BH. Peripheral arterial disease: A small and large vessel problem. *Am Heart J Plus.* 2023 Mar 23;28:100291. doi: 10.1016/j.ahjo.2023.100291. PMID: 38511071; PMCID: PMC10945902.

22. Zilinyi RS, Alsaloum M, Snyder DJ, Raja A, Mintz AJ, Sethi SS, Bajakian D, Parikh SA. Surgical and Endovascular Therapies for Below-the-Knee Peripheral

Arterial Disease: A Contemporary Review. J Soc Cardiovasc Angiogr Interv. 2024 Jan 29;3(3Part A):101268. doi: 10.1016/j.jscai.2023.101268. PMID: 39131787; PMCID: PMC11308828.

23. Olin JW. Thromboangiitis Obliterans: 110 Years Old and Little Progress Made. J Am Heart Assoc. 2018 Dec 4;7(23):e011214. doi: 10.1161/JAHA.118.011214. PMID: 30571606; PMCID: PMC6405560.

24. Wigley FM, Flavahan NA. Raynaud's Phenomenon. N Engl J Med. 2016 Aug 11;375(6):556-65. doi: 10.1056/NEJMra1507638. PMID: 27509103.

25. Nativel M, Potier L, Alexandre L, Baillet-Blanco L, Ducasse E, Velho G, Marre M, Roussel R, Rigalleau V, Mohammedi K. Lower extremity arterial disease in patients with diabetes: a contemporary narrative review. Cardiovasc Diabetol. 2018 Oct 23;17(1):138. doi: 10.1186/s12933-018-0781-1. PMID: 30352589; PMCID: PMC6198374.

26. Neville RF. Management of peripheral arterial disease in the context of a multidisciplinary limb program. Front Cardiovasc Med. 2024 May 1;11:1368655. doi: 10.3389/fcvm.2024.1368655. PMID: 38751662; PMCID: PMC11094204.

27. Miyake K, Kikuchi S, Okuda H, Koya A, Sawa Y, Azuma N. Graft flow predictive equation in distal bypass grafting for critical limb ischemia. J Vasc Surg. 2019 Oct;70(4):1192-1203.e2. doi: 10.1016/j.jvs.2018.12.057. Epub 2019 May 8. PMID: 31078341.

28. Provance JB, Spertus JA, Jones PG, Hoffman MA, Bunte MC, Vogel TR, Mena-Hurtado C, Smolderen KG. Variability in 30-day major amputation rates following endovascular peripheral vascular intervention for critical limb ischemia. Vasc Med. 2022 Aug;27(4):350-357. doi: 10.1177/1358863X221098097. Epub 2022 May 23. Erratum in: Vasc Med. 2023 Feb;28(1):NP2. doi: 10.1177/1358863X221142382. PMID: 35603755.

29. Гавриленко А.В., Котов А.Э., Муравьева Я.Ю., Кочетов С.В., Аликин Е.Ю. Тактические ошибки в хирургическом лечении больных с критической ишемией нижних конечностей при поражении артерий бедра и голени. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2011;(5):10-14.

30. Зудин А.М., Засорина М.А., Орлова М.А. «Эпидемиологические аспекты хронической критической ишемии нижних конечностей» Журнал «ХИРУРГИЯ» №10, 2014, стр. 78-82.

31. Nussbaum S.R., Carter M.J., Fife C.E., DaVanzo J., Haught R., Nusgart M., Cartwright D. An economic evaluation of the impact, cost, and Medicare policy implications of chronic nonhealing wounds // Value in Health. — 2018. — Т. 21, № 1. — С. 27–32. — DOI: 10.1016/j.jval.2017.07.009.

32. Martinengo L, Olsson M, Bajpai R, Soljak M, Upton Z, Schmidtchen A, Car J, Järbrink K. Prevalence of chronic wounds in the general population: systematic review and meta-analysis of observational studies. Ann Epidemiol. 2019 Jan;29:8-15. doi: 10.1016/j.annepidem.2018.10.005. Epub 2018 Nov 12. PMID: 30497932.

33. Falanga V. Chronic wounds: pathogenesis and current treatment strategies // Journal of Dermatological Treatment. — 2022. — Т. 33, № 5. — С. 2255–2268. —

DOI: 10.1080/09546634.2022.2082544.

34. Eming S.A., Martin P., Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation // *Science Translational Medicine*. — 2014. Т. 6, № 265. — С. 265sr6. — DOI: 10.1126/scitranslmed.3009337.

35. Simon F., Oberhuber A., Floros N., Düppers P., Schelzig H., Duran M. Pathophysiology of chronic limb ischemia // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2018. — Т. 19, № 10. — Ст. 3091. — DOI: 10.3390/ijms19103091.

36. Farber A., Eberhardt R.T. The current state of critical limb ischemia: a systematic review // *JAMA Surgery*. — 2016. — Т. 151, № 11. — С. 1070–1077. — DOI: 10.1001/jamasurg.2016.1874.

37. Gupta S, Mujawdiya P, Maheshwari G, Sagar S. Dynamic Role of Oxygen in Wound Healing: A Microbial, Immunological, and Biochemical Perspective. *Arch Razi Inst*. 2022 Apr 30;77(2):513-523. doi: 10.22092/ARI.2022.357230.2003. PMID: 36284982; PMCID: PMC9548270.

38. Бондаренко Н.Н., Хомутов Е.В., Ряполова Т.Л., Кишеня М.С., Игнатенко Т.С., Толстой В.А., Евтушенко И.С., Туманова С.В. "Молекулярно-клеточные механизмы ответа организма на гипоксию" *Ульяновский медико-биологический журнал*, №2, 2023г., стр. 6-29.

39. Vander Heiden M.G., DeBerardinis R.J. Understanding the intersections between metabolism and disease // *Cell*. — 2017. — Т. 169, № 6. — С. 1136–1150. — DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.002.

40. Laird M, Ku JC, Raiten J, Sriram S, Moore M and Li Y (2024) Mitochondrial metabolism regulation and epigenetics in hypoxia. *Front. Physiol.* 15:1393232. June 2024. doi: 10.3389/fphys.2024.1393232.

41. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine // *Cell*. — 2015. — Т. 148, № 3. — С. 399–408. — DOI: 10.1016/j.cell.2012.01.021.

42. Zhang D., Tang Z., Huang H., et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation // *Nature*. — 2019. — Т. 574, № 7779. — С. 575–580. — DOI: 10.1038/s41586-019-1678-1.

43. Darby I.A., Laverdet B., Bonté F., Desmoulière A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. — 2014. — Т. 55. — С. 47–55. — DOI: 10.1016/j.biocel.2014.07.020.

44. Tracy L.E., Minasian R.A., Caterson E.J. Extracellular matrix and dermal fibroblast function in the healing wound // *Advances in Wound Care*. — 2016. — Т. 5, № 3. — С. 119–136. — DOI: 10.1089/wound.2014.0561.

45. Дзугкоев С.Г., Дзугкоева Ф.С., Маргиева О.И., Можаяева И.В. - Участие натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы в регуляции гомеостаза // *Современные проблемы науки и образования*. 2023. № 3. DOI: <https://doi.org/10.17513/spno.32576>

46. Кутепов Д.Е., Жигалова М.С., Пасечник И.Н. Патогенез синдрома ишемии-реперфузии. *Казанский медицинский журнал*, 2018 г., том 99, №4, стр. 640-644. DOI: 10.17816/KMJ2018-640

47. E.V. Shakhristova, E.A. Stepovaya, V.V. Ivanov, O.L. Nosareva, A.N. Dzuman, N.V. Ryazantseva, V.V. Novitskiy «Free radical oxidation of proteins and lipids in

- adipocytes under conditions of oxidative stress» Siberian State Medical University, Russian Federation. *Журнал Молекулярная медицина* №1, 2014. Стр. 59-64.
48. Gimbrone M.A., García-Cardena G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of vascular disease // *Circulation Research*. — 2016. — Т. 118, № 4. С. 620–636. — DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306301.
49. Wang X, He B. Endothelial dysfunction: molecular mechanisms and clinical implications. *MedComm* (2020). 2024 Jul 22;5(8):e651. doi: 10.1002/mco2.651. PMID: 39040847; PMCID: PMC11261813.
50. Shams F, Moravvej H, Hosseinzadeh S, Mostafavi E, Bayat H, Kazemi B, Bandehpour M, Rostami E, Rahimpour A, Moosavian H. Overexpression of VEGF in dermal fibroblast cells accelerates the angiogenesis and wound healing function: in vitro and in vivo studies. *Sci Rep*. 2022 Nov 2;12(1):18529. doi: 10.1038/s41598-022-23304-8. PMID: 36323953; PMCID: PMC9630276.
51. Gurevich DB, Severn CE, Twomey C, Greenhough A, Cash J, Toye AM, Mellor H, Martin P. Live imaging of wound angiogenesis reveals macrophage orchestrated vessel sprouting and regression. *EMBO J*. 2018 Jul 2;37(13):e97786. doi: 10.15252/embj.201797786. Epub 2018 Jun 4. PMID: 29866703; PMCID: PMC6028026.
52. Massagué J. TGF $\beta$  signalling in context // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. — 2018. — Т. 13, № 10. — С. 616–630. — DOI: 10.1038/nrm3434.
53. Juhl P, Bondesen S, Hawkins CL, Karsdal MA, Bay-Jensen AC, Davies MJ, Siebuhr AS. Dermal fibroblasts have different extracellular matrix profiles induced by TGF- $\beta$ , PDGF and IL-6 in a model for skin fibrosis. *Sci Rep*. 2020 Oct 14;10(1):17300. doi: 10.1038/s41598-020-74179-6. PMID: 33057073; PMCID: PMC7560847.
54. Eming SA, Wynn TA, Martin P. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. *Science*. 2017 Jun 9;356(6342):1026-1030. doi: 10.1126/science.aam7928. Epub 2017 Jun 8. PMID: 28596335.
55. MacLeod AS, Mansbridge JN. The Innate Immune System in Acute and Chronic Wounds. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2016 Feb 1;5(2):65-78. doi: 10.1089/wound.2014.0608. PMID: 26862464; PMCID: PMC4742992.
56. Caley MP, Martins VL, O'Toole EA. Metalloproteinases and Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015 Apr 1;4(4):225-234. doi: 10.1089/wound.2014.0581. PMID: 25945285; PMCID: PMC4397992.
57. Xue M, Jackson CJ. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015 Mar 1;4(3):119-136. doi: 10.1089/wound.2013.0485. PMID: 25785236; PMCID: PMC4352699.
58. Italiani P., Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation // *Frontiers in Immunology*. — 2014. — Т. 5, С. 514. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00514.
59. Murray P.J., et al. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines // *Immunity*. — 2014. — Т. 41, № 1. — С. 14–20. — DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.

60. Sang Yong Kim, Meera G Nair. - Macrophages in wound healing: activation and plasticity. *Immunology & Cell Biology* 2019; 97: 258–267 <https://doi.org/10.1111/imcb.12236>
61. Chen C, Liu T, Tang Y, Luo G, Liang G, He W. Epigenetic regulation of macrophage polarization in wound healing. *Burns Trauma*. 2023 Jan 17;11:tkac057. doi: 10.1093/burnst/tkac057. PMID: 36687556; PMCID: PMC9844119.
62. Barman PK, Koh TJ. Macrophage Dysregulation and Impaired Skin Wound Healing in Diabetes. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Jun 26;8:528. doi: 10.3389/fcell.2020.00528. PMID: 32671072; PMCID: PMC7333180.
63. Li Y, Zhang J, Yue J, Gou X, Wu X. Epidermal Stem Cells in Skin Wound Healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2017 Sep 1;6(9):297-307. doi: 10.1089/wound.2017.0728.
64. Ojeh N, Pastar I, Tomic-Canic M, Stojadinovic O. Stem Cells in Skin Regeneration, Wound Healing, and Their Clinical Applications. *Int J Mol Sci*. 2015 Oct 23;16(10):25476-501. doi: 10.3390/ijms161025476.
65. Prompers L., Huijberts M., Apelqvist J., Jude E., Piaggese A., Bakker K., Edmonds M., Holstein P., Jirkovska A., Mauricio D., Spraul M., Uccioli L., van Acker K., Schaper N.C. High prevalence of ischemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study // *Diabetologia*. — 2017. — Т. 60, № 1. — С. 18–28. — DOI: 10.1007/s00125-016-4134-5.
66. Xiao, T., Yan, Z., Xiao, S. et al. Proinflammatory cytokines regulate epidermal stem cells in wound epithelialization. *Stem Cell Res Ther* 11, 232 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01755-y>
67. Погодин И.Е., Самойленко В.М., Киргинцев А.Г., Лузан А.С. Возможности и перспективы использования бактериофагов в лечении хронических ран мягких тканей. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии* 2021; 14: 2: 168-174. DOI: 10.18499/2070-478X-2021-14-2-168-174.
68. McDermott K, Fang M, Boulton AJM, Selvin E, Hicks CW. Etiology, Epidemiology, and Disparities in the Burden of Diabetic Foot Ulcers. *Diabetes Care*. 2023 Jan 1;46(1):209-221. doi: 10.2337/dci22-0043. PMID: 36548709; PMCID: PMC9797649.
69. Shaikh-Kader A, Houreld NN, Rajendran NK, Abrahamse H. The link between advanced glycation end products and apoptosis in delayed wound healing. *Cell Biochem Funct*. 2019 Aug;37(6):432-442. doi: 10.1002/cbf.3424. Epub 2019 Jul 18. PMID: 31318458.
70. Гнедовская Е.В., Кравченко М.А., Прокопович М.Е., Андреева О.С., Сергеев Д. В., Ощепкова Е.В., Варакин Ю.Я., Пирадов М.А. «Распространенность факторов риска цереброваскулярных заболеваний у жителей мегаполиса в возрасте 40-59 лет (клинико-эпидемиологическое исследование)» *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* стр. 11-19. 2016г.
71. Глушков Н.И., Иванов М.А., Бондаренко П.Б., Зайцев В.В., Новицкая Т.А., Коплярова Н.С., Пиханова Ж.М., Шаповалов А.С., Афлитонов М.А., Гурина А.В.

«Факторы риска развития и особенности течения периферической атеросклеротической болезни у женщин» - Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова» стр.68-72. 2014г.

72. Otsuji H, Kanda D, Takumi T, Tokushige A, Sonoda T, Arikawa R, Anzaki K, Ikeda Y, Ohishi M. Association of wound, ischemia, and foot infection clinical stage with frailty and malnutrition in chronic limb-threatening ischemia patients undergoing endovascular intervention. *Vascular*. 2023 Jun;31(3):504-512. doi: 10.1177/17085381221076943. Epub 2022 Feb 28. PMID: 35226573; PMCID: PMC10233507.

73. Almadani YH, Vorstenbosch J, Davison PG, Murphy AM. Wound Healing: A Comprehensive Review. *Semin Plast Surg*. 2021 Aug;35(3):141-144. doi: 10.1055/s-0041-1731791. Epub 2021 Jul 15. PMID: 34526860; PMCID: PMC8432991.

74. Wilkinson HN, Hardman MJ. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol*. 2020 Sep;10(9):200223. doi: 10.1098/rsob.200223. Epub 2020 Sep 30. PMID: 32993416; PMCID: PMC7536089.

75. Conte MS, Bradbury AW, et. all Global Vascular Guidelines on the Management of Chronic Limb-Threatening Ischemia. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2019 Jul;58(1S):S1-S109.e33. doi: 10.1016/j.ejvs.2019.05.006. Epub 2019 Jun 8. Erratum in: *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2020 Mar;59(3):492-493. doi: 10.1016/j.ejvs.2019.11.025. Erratum in: *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2020 Jul;60(1):158-159. doi: 10.1016/j.ejvs.2020.04.033. PMID: 31182334; PMCID: PMC8369495.

76. Opneja A, Kapoor S, Stavrou EX. Contribution of platelets, the coagulation and fibrinolytic systems to cutaneous wound healing. *Thromb Res*. 2019 Jul;179:56-63. doi: 10.1016/j.thromres.2019.05.001. Epub 2019 May 2. PMID: 31078121; PMCID: PMC6556139.

77. Ventrizzo G, Mazzitelli G, Ruzzi U, Liistro F, Scatena A, Martelli E. Limb Salvage and Survival in Chronic Limb-Threatening Ischemia: The Need for a Fast-Track Team-Based Approach. *J Clin Med*. 2023 Sep 20;12(18):6081. doi: 10.3390/jcm12186081. PMID: 37763021; PMCID: PMC10531516.

78. Berchiolli R, Bertagna G, Adami D, Canovaro F, Torri L, Troisi N. Chronic Limb-Threatening Ischemia and the Need for Revascularization. *J Clin Med*. 2023 Apr 4;12(7):2682. doi: 10.3390/jcm12072682. PMID: 37048765; PMCID: PMC10095037.

79. Azarbal A, Clavijo L, Gaglia MA Jr. Antiplatelet therapy for peripheral arterial disease and critical limb ischemia: guidelines abound, but where are the data? *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2015 Mar;20(2):144-56. doi: 10.1177/1074248414545126. Epub 2014 Jul 30. PMID: 25079473.

80. Wang, Z., Zhu, S., Zhu, J. *et al.* Comparison of P2Y12 inhibitors and aspirin in secondary prevention of coronary events: a meta-analysis of RCTs. *BMC Cardiovasc Disord* 25, 207 (2025). <https://doi.org/10.1186/s12872-025-04668-x>

81. Hiatt W. R., et al. Rivaroxaban and aspirin in peripheral artery disease lower extremity revascularization: impact of concomitant clopidogrel on efficacy and safety

- // *Circulation*. - 2020. - T. 142, № 23. - C. 2219-2230. doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.05046
82. Weiss TW, Mehrabi MR, Kaun C, Zorn G, Kastl SP, Speidl WS, Pfaffenberger S, Rega G, Glogar HD, Maurer G, Pacher R, Huber K, Wojta J. Prostaglandin E1 induces vascular endothelial growth factor-1 in human adult cardiac myocytes but not in human adult cardiac fibroblasts via a cAMP-dependent mechanism. *J Mol Cell Cardiol*. 2004 Apr;36(4):539-46. doi: 10.1016/j.yjmcc.2004.02.001. PMID: 15081313.
83. Jiang Y, Zhang Q, Wang H, Välimäki M, Zhou Q, Dai W, Guo J. Effectiveness of silver and iodine dressings on wound healing: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2024 Aug 13;14(8):e077902. doi: 10.1136/bmjopen-2023-077902. PMID: 39142672; PMCID: PMC11331977.
84. Aderibigbe BA, Buyana B. Alginate in Wound Dressings. *Pharmaceutics*. 2018 Apr 2;10(2):42. doi: 10.3390/pharmaceutics10020042. PMID: 29614804; PMCID: PMC6027439.
85. Normandin S, Safran T, Winocour S, Chu CK, Vorstenbosch J, Murphy AM, Davison PG. Negative Pressure Wound Therapy: Mechanism of Action and Clinical Applications. *Semin Plast Surg*. 2021 Aug;35(3):164-170. doi: 10.1055/s-0041-1731792. Epub 2021 Sep 10. PMID: 34526864; PMCID: PMC8432996.
86. Damineni U, Divity S, Gundapaneni SRC, Burri RG, Vadde T. Clinical Outcomes of Hyperbaric Oxygen Therapy for Diabetic Foot Ulcers: A Systematic Review. *Cureus*. 2025 Feb 6;17(2):e78655. doi: 10.7759/cureus.78655. PMID: 40062051; PMCID: PMC11890413.
87. Thukkani AK, Kinlay S. Endovascular intervention for peripheral artery disease. *Circ Res*. 2015 Apr 24;116(9):1599-613. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303503. PMID: 25908731; PMCID: PMC4504240.
88. Krankenberg H, Zeller T, Ingwersen M, Schmalstieg J, Gissler HM, Nikol S, Baumgartner I, Diehm N, Nickling E, Müller-Hülsbeck S, Schmiedel R, Torsello G, Hochholzer W, Stelzner C, Brechtel K, Ito W, Kickuth R, Blessing E, Thieme M, Nakonieczny J, Nolte T, Gareis R, Boden H, Sixt S. Self-Expanding Versus Balloon-Expandable Stents for Iliac Artery Occlusive Disease: The Randomized ICE Trial. *JACC Cardiovasc Interv*. 2017 Aug 28;10(16):1694-1704. doi: 10.1016/j.jcin.2017.05.015. PMID: 28838480.
89. Mustapha JA, Anose BM, Martinsen BJ, Pliagas G, Ricotta J, Boyes CW, Lee MS, Saab F, Adams G. Lower extremity revascularization via endovascular and surgical approaches: A systematic review with emphasis on combined inflow and outflow revascularization. *SAGE Open Med*. 2020 Jun 4;8:2050312120929239. doi: 10.1177/2050312120929239. PMID: 32551113; PMCID: PMC7278295.
90. Santo VJ, Dargon P, Azarbal AF, Liem TK, Mitchell EL, Landry GJ, Moneta GL. Lower extremity autologous vein bypass for critical limb ischemia is not adversely affected by prior endovascular procedure. *J Vasc Surg*. 2014 Jul;60(1):129-35. doi: 10.1016/j.jvs.2014.01.013. Epub 2014 Mar 7. PMID: 24613692.
91. Dorigo W, Fargion A, Bassoli G, Di Domenico R, Giacomelli E, Piffaretti G, Alessi

Innocenti A, Pratesi C. Autologous saphenous vein and heparin-bonded expanded polytetrafluoroethylene as graft materials for below-the-knee femoro-popliteal bypass in patients with critical limb ischemia: A propensity score-matched analysis. *Surgeon*. 2022 Apr;20(2):85-93. doi: 10.1016/j.surge.2021.02.001. Epub 2021 Mar 6. PMID: 33685832.

92. Forsyth A, Haqqani MH, Alfson DB, Shaikh SP, Brea F, Richman A, Siracuse JJ, Rybin D, Farber A, Brahmhatt TS. Long-term outcomes of autologous vein bypass for repair of upper and lower extremity major arterial trauma. *J Vasc Surg*. 2024 Jun;79(6):1339-1346. doi: 10.1016/j.jvs.2024.01.204. Epub 2024 Jan 30. PMID: 38301809.

93. Watson NW, Mosarla RC, Secemsky EA. Endovascular Interventions for Peripheral Artery Disease: A Contemporary Review. *Curr Cardiol Rep*. 2023 Nov;25(11):1611-1622. doi: 10.1007/s11886-023-01973-9. Epub 2023 Oct 7. PMID: 37804391; PMCID: PMC12702562.

94. Endo M, Yata S, Takasugi S, Yamamoto S, Kamata Y, Makishima J, Kishimoto M, Shinano K, Fujii S. Latest Trend of Endovascular Treatment for Lower Extremity Artery Disease and Recommendations from Interventional Radiologist: To Continue Engaging in This Field Moving Forward. *Interv Radiol (Higashimatsuyama)*. 2025 Jun 30;10:e20240052. doi: 10.22575/interventionalradiology.2024-0052. PMID: 40918237; PMCID: PMC12408231.

95. Jones WS, Dolor RJ, Hasselblad V, Vemulapalli S, Subherwal S, Schmit K, Heidenfelder B, Patel MR. Comparative effectiveness of endovascular and surgical revascularization for patients with peripheral artery disease and critical limb ischemia: systematic review of revascularization in critical limb ischemia. *Am Heart J*. 2014 Apr;167(4):489-498.e7. doi: 10.1016/j.ahj.2013.12.012. Epub 2014 Jan 4. PMID: 24655697.

96. Totić D, Đurović Sarajlić V, Vranić H, Hadžimehmedagić A, Rustempašić N, Djedović M, Vukas H, Ahmetašević A. Endovascular or open surgical treatment of 98ischemia. *Med Glas (Zenica)*. 2020 Aug 1;17(2):477-484. doi: 10.17392/1143-20. PMID: 32602301.

97. Marco Roffi, Bernhard Meier, Augusto Gallino, Fifty years of percutaneous transluminal angioplasty, *European Heart Journal*, Volume 45, Issue 20, 21 May 2024, Pages 1779–1780, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehae145>

98. Barton Matthias, Grüntzig Johannes, Husmann Marc, Rösch Josef. Balloon Angioplasty – The Legacy of Andreas Grüntzig, M.D. (1939–1985) *Journal Frontiers in Cardiovascular Medicine* Volume 1 - 2014. DOI=10.3389/fcvm.2014.00015

99. Verde N, Ciliberti G, Pittorino L, Ferrone M, Franzese M, Russo M, Cioppa A, Popusoi G, Salemme L, Tesorio T, Di Gioia G. Contemporary Use of Drug-Coated Balloons for Coronary Angioplasty: A Comprehensive Review. *J Clin Med*. 2024 Oct 19;13(20):6243. doi: 10.3390/jcm13206243. PMID: 39458193; PMCID: PMC11508324.

100. Barton M, Grüntzig J, Husmann M, Rösch J. Balloon Angioplasty - The Legacy of Andreas Grüntzig, M.D. (1939-1985). *Front Cardiovasc Med*. 2014 Dec 29;1:15.

doi: 10.3389/fcvm.2014.00015. PMID: 26664865; PMCID: PMC4671350.

101. Tan C, Schatz RA. The History of Coronary Stenting. *Interv Cardiol Clin*. 2016 Jul;5(3):271-280. doi 10.1016/j.iccl.2016.03.001. Epub 2016 Jun 21. PMID 28582026.

102. Buccheri D, Piraino D, Andolina G, Cortese B. Understanding and managing in-stent restenosis a review of clinical data, from pathogenesis to treatment. *J Thorac Dis*. 2016 Oct;8(10):E1150-E1162. doi 10.21037/jtd.2016.10.93. PMID 27867580; PMCID PMC5107494.

103. Zorger, Niels; Manke, Christoph; Lenhart, Markus; Finkenzeller, Thomas; Djavidani, Behrus; Feuerbach, Stefan; Link, Johann. (2002). Peripheral Arterial Balloon Angioplasty: Effect of Short versus Long Balloon Inflation Times on the Morphologic Results. , 13(4), 355–359. doi:10.1016/S1051-0443(07)61736-9104.

104. Stoeckel D, Pelton A, Duerig T. Self-expanding nitinol stents: material and design considerations. *Eur Radiol*. 2004 Feb;14(2):292-301. doi: 10.1007/s00330-003-2022-5. Epub 2003 Sep 3. PMID: 12955452.

105. Bertrand, O, Sipehia, R, Mongrain, R. et al. Biocompatibility aspects of new stent technology. *JACC*. 1998 Sep, 32 (3) 562–571. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(98\)00289-7](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(98)00289-7)

106. Pescio M, Kundrat D, Dagnino G. Endovascular robotics technical advances and future directions. *Minim Invasive Ther Allied Technol*. 2025 Jun;34(3):239-252. doi 10.1080/13645706.2025.2454237. Epub 2025 Jan 21. PMID 39835841.

107. Yao T, Lu B, Kowarschik M, Yuan Y, Zhao H, Ourselin S, Althoefer K, Ge J, Qi P. Advancing Embodied Intelligence in Robotic-Assisted Endovascular Procedures: A Systematic Review of AI Solutions. *IEEE Rev Biomed Eng*. 2025 Dec 16;PP. doi: 10.1109/RBME.2025.3641383. Epub ahead of print. PMID: 41406269.

108. Kim HO, Yim NY, Kim JK, Kang YJ, Lee BC. Endovascular Aneurysm Repair for Abdominal Aortic Aneurysm: A Comprehensive Review. *Korean J Radiol*. 2019 Aug;20(8):1247-1265. doi: 10.3348/kjr.2018.0927. PMID: 31339013; PMCID: PMC6658877.

109. Muramatsu, T., Kozuma, K., Tanabe, K. *et al*. Clinical expert consensus document on drug-coated balloon for coronary artery disease from the Japanese Association of Cardiovascular Intervention and Therapeutics. *Cardiovasc Interv and Ther* 38, 166–176 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12928-023-00921-2>

110. Tataru DA, Lazar FL, Onea HL, Homorodean C, Ober MC, Olinic M, Spinu M, Olinic DM. Benefits and Challenges of Drug-Coated Balloons in Peripheral Artery Disease: From Molecular Mechanisms to Clinical Practice. *Int J Mol Sci*. 2024 Aug 11;25(16):8749. doi: 10.3390/ijms25168749. PMID: 39201436; PMCID: PMC11354615.

111. Franzone A, Ferrone M, Carotenuto G, Carbone A, Scudiero L, Serino F, Scudiero F, Izzo R, Piccolo R, Saviano S, Amato B, Perrino C, Trimarco B, Esposito G. The role of atherectomy in the treatment of lower extremity peripheral artery disease. *BMC Surg*. 2012;12 Suppl 1(Suppl 1):S13. doi: 10.1186/1471-2482-12-S1-S13. Epub 2012 Nov 15. PMID: 23173800; PMCID: PMC3499201.

112. Hayakawa N, Kodera S, Hirano S, Arakawa M, Inoguchi Y, Kanda J. An AnteOwl WR intravascular ultrasound-guided parallel wiring technique for chronic total occlusion of below-the-knee arteries. *CVIR Endovasc*. 2022 Mar 26;5(1):18. doi: 10.1186/s42155-022-00294-2. PMID: 35347485; PMCID: PMC8960544.
113. Farber A, Menard MT, et al; BEST-CLI Investigators. Surgery or Endovascular Therapy for Chronic Limb-Threatening Ischemia. *N Engl J Med*. 2022 Dec 22;387(25):2305-2316. doi: 10.1056/NEJMoa2207899. Epub 2022 Nov 7. PMID: 36342173.
114. Wiseman, Jason T.; Fernandes-Taylor, Sara; Saha, Sandeep; Havlena, Jeffrey; Rathouz, Paul J.; Smith, Maureen A.; Kent, K. Craig . (2016). Endovascular Versus Open Revascularization for Peripheral Arterial Disease. *Annals of Surgery*, (), 1–. doi:10.1097/sla. 0000000000001676
115. Anantha-Narayanan M, Doshi RP, Patel K, Sheikh AB, Llanos-Chea F, Abbott JD, Shishehbor MH, Guzman RJ, Hiatt WR, Duval S, Mena-Hurtado C, Smolderen KG. Contemporary Trends in Hospital Admissions and Outcomes in Patients With Critical Limb Ischemia: An Analysis From the National Inpatient Sample Database. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2021 Feb;14(2):e007539. doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.120.007539. Epub 2021 Feb 5. PMID: 33541110.
116. Abdullah, Kazeen; Bou Dargham, Bassel; Steinbrecher, Micah; Sun, Bo; Huiqiang, Zhao; Khalili, Houman; Brilakis, Emmanouil S.; Banerjee, Subhash . (2018). Drug-Eluting Stents for Treatment of Peripheral Artery Disease. *American Journal of Cardiovascular Drugs*, (), –. doi:10.1007/s40256-018-0265-4
117. Baerlocher MO, Kennedy SA, Rajebi MR, Baerlocher FJ, Misra S, Liu D, Nikolic B. Meta-analysis of drug-eluting balloon angioplasty and drug-eluting stent placement for infrainguinal peripheral arterial disease. *J Vasc Interv Radiol*. 2015 Apr;26(4):459-73.e4; quiz 474. doi: 10.1016/j.jvir.2014.12.013. Epub 2015 Feb 20. PMID: 25703839.
118. Torsello, G.F., Stavroulakis, K., Bisdas, T. et al. Treatment of Femoropopliteal Artery Disease with Polymer-Coated Drug-Eluting Stent: 5-Year Results of a Prospective, Non-Randomized Study Including the Halo Phenomenon. *Cardiovasc Intervent Radiol* 47, 177–185 (2024). <https://doi.org/10.1007/s00270-023-03652-2>
119. Byrne, Robert A.; Joner, Michael; Alfonso, Fernando; Kastrati, Adnan . (2013). Drug-coated balloon therapy in coronary and peripheral artery disease. *Nature Reviews Cardiology*, 11(1), 13–23. doi:10.1038/nrcardio.2013.165
120. Shanmugasundaram, Madhan; Murugapandian, Sangeetha; Truong, Huu Tam; Lotun, Kapildeo; Banerjee, Subhash . (2018). Drug coated balloon in peripheral artery disease. *Cardiovascular Revascularization Medicine*, (), S1553838918301477–. doi:10.1016/j.carrev.2018.04.017
121. Giusca S, Hagstotz S, Lichtenberg M, Heinrich U, Eisenbach C, Andrassy M, Korosoglou G. Phoenix atherectomy for patients with peripheral artery disease. *EuroIntervention*. 2022 Aug 5;18(5):e432-e442. doi: 10.4244/EIJ-D-21-01070. PMID: 35389346; PMCID: PMC10331978.
122. Yasunaga M, Iida O, Toyoshima T, Yoshii D, Kurata N, Ki Y, Minamiguchi H,

Ichibori Y, Nakamoto K, Mori N, Higuchi Y. Clinical Utility of the Rotational and Orbital Atherectomy System in the Endovascular Therapy of Severely Calcified Femoropopliteal Lesions. *Circ Rep.* 2025 Jun 20;7(8):670-676. doi: 10.1253/circrep.CR-25-0013. PMID: 40785828; PMCID: PMC12331348.

123. Hamzaraj K, Kammerlander A, Gyöngyösi M, Frey B, Distelmaier K, Graf S. Patient Selection and Clinical Indication for Chronic Total Occlusion Revascularization-A Workflow Focusing on Non-Invasive Cardiac Imaging. *Life (Basel).* 2022 Dec 20;13(1):4. doi: 10.3390/life13010004. PMID: 36675954; PMCID: PMC9864679.

124. Li J, Varcoe R, Manzi M, Kum S, Iida O, Schmidt A, Shishehbor MH. Below-the-Knee Endovascular Revascularization: A Position Statement. *JACC Cardiovasc Interv.* 2024 Mar 11;17(5):589-607. doi: 10.1016/j.jcin.2023.11.040. Epub 2024 Jan 17. PMID: 38244007.

125. Diehm, N.; Baumgartner, I.; Jaff, M.; Do, D.-D.; Minar, E.; Schmidli, J.; Diehm, C.; Biamino, G.; Vermassen, F.; Scheinert, D.; van Sambeek, M. R.H.M.; Schillinger, M. . (2007). A call for uniform reporting standards in studies assessing endovascular treatment for chronic ischaemia of lower limb arteries. *European Heart Journal*, 28(7), 798–805. doi:10.1093/eurheartj/ehl545

126. Hasan H. Dosluoglu; Purandath Lall; Gregory S. Cherr; Linda M. Harris; Maciej L. Dryjski. (2010). *Role of simple and complex hybrid revascularization procedures for symptomatic lower extremity occlusive disease.* , 51(6), 1425–14350. doi:10.1016/j.jvs.2010.01.092

127. Peters F, Behrendt CA; IDOMENEO Collaborators. Limb Related Outcomes of Endovascular vs. Open Surgical Revascularisation in Patients with Peripheral Arterial Occlusive Disease: A Report from the Prospective GermanVasc Cohort Study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2023 Jul;66(1):85-93. doi: 10.1016/j.ejvs.2023.03.040. Epub 2023 Mar 25. PMID: 36972814.

128. Chen CL, Chen CM, Wang CY, Ko PW, Chen CH, Hsieh CP, Chiu HC. Frailty is Associated with an Increased Risk of Major Adverse Outcomes in Elderly Patients Following Surgical Treatment of Hip Fracture. *Sci Rep.* 2019 Dec 13;9(1):19135. doi: 10.1038/s41598-019-55459-2. PMID: 31836751; PMCID: PMC6910954.

129. Katz M, Silverstein N, Coll P, Sullivan G, Girard E, Sachs A, Gross JB, Girard E, Liang J, Ristau BT, Stevenson C, Smith PP, Shames BD, Millea R, Ali I, Poulos CM, Ramaraj AB, Otukoya AO, Nolan J, Wahla Z, Hardy C, Al-Naggar I, Bliss LA, McFadden DW. Surgical care of the geriatric patient. *Curr Probl Surg.* 2019 Jul;56(7):260-329. doi: 10.1067/j.cpsurg.2019.03.003. Epub 2019 Mar 21. Erratum in: *Curr Probl Surg.* 2019 Dec;56(12):100647. doi: 10.1016/j.cpsurg.2019.100647. PMID: 31229137.

130. Huilca MA, Moreno-Loaiza M, Tipacti-Rodríguez F, Briceño-Alvarado M, Llalle WSC. Endovascular revascularization of chronic total arterial occlusion of the

- lower limb using the SAFARI technique. *J Vasc Bras*. 2021 Mar 12;20:e20200126. doi: 10.1590/1677-5449.200126. PMID: 34093686; PMCID: PMC8147880.
131. Thukkani AK, Kinlay S. Endovascular intervention for peripheral artery disease. *Circ Res*. 2015 Apr 24;116(9):1599-613. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303503. PMID: 25908731; PMCID: PMC4504240.
132. Panico A, Jafferani A, Shah F, Dieter RS. Advances in peripheral arterial disease endovascular revascularization. *Cardiol Clin*. 2015 Feb;33(1):89-98. doi: 10.1016/j.ccl.2014.09.002. PMID: 25439333.
133. Dong Y, Yang Q, Sun X. Comprehensive Analysis of Cell Therapy on Chronic Skin Wound Healing: A Meta-Analysis. *Hum Gene Ther*. 2021 Aug;32(15-16):787-795. doi: 10.1089/hum.2020.275. Epub 2021 May 6. PMID: 33446038.
134. Toki F, Nanba D, Nishimura EK, Matsuzaki K. Evaluation of the proliferative potential of skin keratinocytes and fibroblasts isolated from critical limb ischemia patients. *Regen Ther*. 2020 May 15;14:222-226. doi: 10.1016/j.reth.2020.03.016. PMID: 32435674; PMCID: PMC7229408.
135. Huelsboemer, L., Knoedler, L., Kochen, A. *et al*. Cellular therapeutics and immunotherapies in wound healing – on the pulse of time?. *Military Med Res* 11, 23 (2024). <https://doi.org/10.1186/s40779-024-00528-5>
136. Park, H. E., Foster, D. S., & Longaker, M. T. (2018). Fibroblasts and Wound Healing: an Update. *Regenerative Medicine*, 13(5), 491–495. <https://doi.org/10.2217/rme-2018-0073>
137. Jadowiec C, Brenes RA, Li X, Lv W, Protack CD, Collins MJ, Dardik A. Stem cell therapy for critical limb ischemia: what can we learn from cell therapy for chronic wounds? *Vascular*. 2012 Oct;20(5):284-9. doi: 10.1258/vasc.2011.201206. Epub 2012 Oct 19. PMID: 23086986; PMCID: PMC3675650.
138. Hultman CS, Adams UC, Rogers CD, Pillai M, Brown ST, McGroarty CA, McMoon M, Uberti MG. Benefits of Aerosolized, Point-of-care, Autologous Skin Cell Suspension (ASCS) for the Closure of Full-thickness Wounds From Thermal and Nonthermal Causes: Learning Curves From the First 50 Consecutive Cases at an Urban, Level 1 Trauma Center. *Ann Surg*. 2024 Sep 1;280(3):452-462. doi: 10.1097/SLA.0000000000006387. Epub 2024 Jun 13. PMID: 38869250; PMCID: PMC11315402.
139. Cooke JP, Bhatnagar R, Szuba A, Rockson SG. Fibroblast growth factor as therapy for critical limb ischemia: a case report. *Vasc Med*. 1999;4(2):89-91. doi: 10.1177/1358836X9900400206. PMID: 10406455.
140. Wong VW, Gurtner GC. Tissue engineering for the management of chronic wounds: current concepts and future perspectives. *Exp Dermatol*. 2012 Oct;21(10):729-34. doi: 10.1111/j.1600-0625.2012.01542.x. Epub 2012 Jun 29. PMID: 22742728.

141. Andrade TAM, da Silva VA, Scheck K, Garay T, Sharma R, Willerth SM. 3D Bioprinting a Novel Skin Co-Culture Model Using Human Keratinocytes and Fibroblasts. *J Biomed Mater Res A*. 2025 Jan;113(1):e37831. doi: 10.1002/jbm.a.37831. Epub 2024 Nov 2. PMID: 39487730.
142. Stammitz, S.; Krawczenko, A.; Klimczak, A. Combined TGF- $\beta$ 3 and FGF-2 Stimulation Enhances Chondrogenic Potential of Ovine Bone Marrow-Derived MSCs. *Cells* 2025, *14*, 1013. <https://doi.org/10.3390/cells14131013>
143. Bainbridge P. Wound healing and the role of fibroblasts. *J Wound Care*. 2013 Aug;22(8):407-8, 410-12. doi: 10.12968/jowc.2013.22.8.407. PMID: 23924840.
144. Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G, Hinz B. The myofibroblast in wound healing and fibrosis: answered and unanswered questions. *F1000Res*. 2016 Apr 26;5:F1000 Faculty Rev-752. doi: 10.12688/f1000research.8190.1. PMID: 27158462; PMCID: PMC4847562.
145. Smith J, Rai V. Novel Factors Regulating Proliferation, Migration, and Differentiation of Fibroblasts, Keratinocytes, and Vascular Smooth Muscle Cells during Wound Healing. *Biomedicines*. 2024 Aug 23;12(9):1939. doi: 10.3390/biomedicines12091939. PMID: 39335453; PMCID: PMC11429312.
146. Tiskratok W, Chuinsiri N, Limraksasin P, Kyawsoewin M, Jitprasertwong P. Extracellular Matrix Stiffness: Mechanotransduction and Mechanobiological Response-Driven Strategies for Biomedical Applications Targeting Fibroblast Inflammation. *Polymers (Basel)*. 2025 Mar 20;17(6):822. doi: 10.3390/polym17060822. PMID: 40292716; PMCID: PMC11946729.
147. Lee C, Kim MJ, Kumar A, Lee HW, Yang Y, Kim Y. Vascular endothelial growth factor signaling in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic perspectives. *Signal Transduct Target Ther*. 2025 May 19;10(1):170. doi: 10.1038/s41392-025-02249-0. PMID: 40383803; PMCID: PMC12086256.
148. Guillard J, Schwörer S. Metabolic control of collagen synthesis. *Matrix Biol*. 2024 Nov;133:43-56. doi: 10.1016/j.matbio.2024.07.003. Epub 2024 Jul 29. PMID: 39084474; PMCID: PMC11402592.
149. Bártolo I, Reis RL, Marques AP, Cerqueira MT. Keratinocyte Growth Factor-Based Strategies for Wound Re-Epithelialization. *Tissue Eng Part B Rev*. 2022 Jun;28(3):665-676. doi: 10.1089/ten.TEB.2021.0030. Epub 2021 Oct 18. PMID: 34238035.
150. Vecin NM, Kirsner RS. Skin substitutes as treatment for chronic wounds: current and future directions. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Aug 29;10:1154567. doi: 10.3389/fmed.2023.1154567. PMID: 37711741; PMCID: PMC10498286.
151. Farabi B, Roster K, Hirani R, Tepper K, Atak MF, Safai B. The Efficacy of Stem Cells in Wound Healing: A Systematic Review. *Int J Mol Sci*. 2024 Mar 5;25(5):3006. doi: 10.3390/ijms25053006. PMID: 38474251; PMCID: PMC10931571.

152. Yassaghi, Y., Nazerian, Y., Niazi, F. *et al.* Advancements in cell-based therapies for thermal burn wounds: a comprehensive systematic review of clinical trials outcomes. *Stem Cell Res Ther* 15, 277 (2024). <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03901-2>
153. Hirose Y, Fujita C, Hyoudou T, Inoue E, Inoue H. Skin Rejuvenation Using Autologous Cultured Fibroblast Grafting. *Cureus*. 2024 Dec 9;16(12):e75405. doi: 10.7759/cureus.75405. PMID: 39781128; PMCID: PMC11710863.
154. Sun Y, Zhu M, Qiu L. Efficacy of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma therapies on wound healing: A Systematic Review and meta-analysis. *Regen Ther*. 2025 May 19;30:75-91. doi: 10.1016/j.reth.2025.04.010. PMID: 40491558; PMCID: PMC12148411.
155. Stone RC, Stojadinovic O, Rosa AM, Ramirez HA, Badiavas E, Blumenberg M, Tomic-Canic M. A bioengineered living cell construct activates an acute wound healing response in venous leg ulcers. *Sci Transl Med*. 2017 Jan 4;9(371):eaaf8611. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf8611. PMID: 28053158; PMCID: PMC5472448.
156. Kristensen MT, Holm G, Krasheninnikoff M, Jensen PS, Gebuhr P. An enhanced treatment program with markedly reduced mortality after a transtibial or higher non-traumatic lower extremity amputation. *Acta Orthop*. 2016 Jun;87(3):306-11. doi: 10.3109/17453674.2016.1167524. Epub 2016 Apr 18. PMID: 27088484; PMCID: PMC4900091.
157. Robinson WP, Loretz L, Hanesian C, Flahive J, Bostrom J, Lunig N, Schanzer A, Messina L. Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, foot Infection (WIFI) score correlates with the intensity of multimodal limb treatment and patient-centered outcomes in patients with threatened limbs managed in a limb preservation center. *J Vasc Surg*. 2017 Aug;66(2):488-498.e2. doi: 10.1016/j.jvs.2017.01.063. Epub 2017 Apr 11. PMID: 28410924.
158. Torbjörnsson E, Fagerdahl AM, Blomgren L, Boström L, Ottosson C, Malmstedt J. Risk factors for reamputations in patients amputated after revascularization for critical limb-threatening ischemia. *J Vasc Surg*. 2021 Jan;73(1):258-266.e1. doi: 10.1016/j.jvs.2020.03.055. Epub 2020 Apr 28. PMID: 32360684.
159. Guest JF, Fuller GW, Vowden P. Cohort study evaluating the burden of wounds to the UK's National Health Service in 2017/2018: update from 2012/2013. *BMJ Open*. 2020 Dec 22;10(12):e045253. doi: 10.1136/bmjopen-2020-045253. PMID: 33371051; PMCID: PMC7757484.
160. Shi R, Jin Y, Cao C, Han S, Shao X, Meng L, Cheng J, Zhang M, Zheng J, Xu J, Li M. Localization of human adipose-derived stem cells and their effect in repair of diabetic foot ulcers in rats. *Stem Cell Res Ther*. 2016 Oct 22;7(1):155. doi: 10.1186/s13287-016-0412-2. PMID: 27770835; PMCID: PMC5075186.

161. Scatena A, Petruzzi P, Maioli F, Lucaroni F, Ambrosone C, Ventoruzzo G, Liistro F, Tacconi D, Di Filippi M, Attempati N, Palombi L, Ercolini L, Bolognese L. Autologous Peripheral Blood Mononuclear Cells for Limb Salvage in Diabetic Foot Patients with No-Option Critical Limb Ischemia. *J Clin Med*. 2021 May 20;10(10):2213. doi: 10.3390/jcm10102213. PMID: 34065278; PMCID: PMC8161401.
162. Dubský M, Husáková J, Bem R, Jirkovská A, Němcová A, Fejfarová V, Sutoris K, Kahle M, Jude EB. Comparison of the impact of autologous cell therapy and conservative standard treatment on tissue oxygen supply and course of the diabetic foot in patients with chronic limb-threatening ischemia: A randomized controlled trial. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Aug 29;13:888809. doi: 10.3389/fendo.2022.888809. PMID: 36105404; PMCID: PMC9464922.
163. Forsythe RO, Apelqvist J, Boyko EJ, Fitridge R, Hong JP, Katsanos K, Mills JL, Nikol S, Reekers J, Venermo M, Zierler RE, Schaper NC, Hinchliffe RJ. Effectiveness of bedside investigations to diagnose peripheral artery disease among people with diabetes mellitus: A systematic review. *Diabetes Metab Res Rev*. 2020 Mar;36 Suppl 1:e3277. doi: 10.1002/dmrr.3277. PMID: 32176448.
164. Beckman JA, Schneider PA, Conte MS. Advances in Revascularization for Peripheral Artery Disease: Revascularization in PAD. *Circ Res*. 2021 Jun 11;128(12):1885-1912. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318261. Epub 2021 Jun 10. PMID: 34110904.
165. Shu H, Xiong X, Chen X, Sun X, Zhang R, Wang R, Huang Q, Zhu J. Endovascular revascularization vs. open surgical revascularization for patients with lower extremity artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Front Cardiovasc Med*. 2023 Jul 24;10:1223841. doi: 10.3389/fcvm.2023.1223841. PMID: 37554365; PMCID: PMC10405177.
166. Almasri J, Adusumalli J, Asi N, Lakis S, Alsawas M, Prokop LJ, Bradbury A, Kolh P, Conte MS, Murad MH. A systematic review and meta-analysis of revascularization outcomes of infrainguinal chronic limb-threatening ischemia. *J Vasc Surg*. 2018 Aug;68(2):624-633. doi: 10.1016/j.jvs.2018.01.066. Epub 2018 May 24. PMID: 29804736.
167. Данлыбаева Г.А., Аbugалиев К.Р. «Способ регенерации кожного покрова с использованием клеточного препарата “Фиброспрей”» Патент №27238 от 15.08.2013г.
168. Данлыбаева Г.А., Муқанов К.К., Каюпов Б.А., Кумашева В.Т., Огай В. Б., Раманкулов Е.М., Аманжолов Р.А. «Штамм диплоидной культуры клеток эмбриональных фибробластов человека ФЭЧ 2/09 для регенеративной медицины». Патент №25091 от 15.12.2011г.

169. Glushkov N.I., Ivanov M.A., Artemova A.S. Results of various revascularization methods in patients with critical ischemia of the lower extremities on the background of peripheral atherosclerosis. *Kardiologiya i serdechnosudistaya khirurgiya* [Cardiology and Cardiovascular Surgery]. 2017; 10 (3): 50–6.
170. Дмитрий Е.К., Жигалова М.С., Пасечник И.Н. Патогенез синдрома ишемии-реперфузии. *Казанский медицинский журнал*, 2018 г., том 99, №4, стр. 640-644. DOI: 10.17816/KMJ2018-640.
171. Бутырский А. Г., Бутырская И. Б. «Современная парадигма лечения хронических ран» *Таврический медико-биологический вестник*, Том 26, №4, стр. 57-73. 2023г. DOI: 10.29039/2070-8092-2023-26-4-57-73
172. Целуйко С.С., Красавина Н.П., Саяпина И.Ю., Огородникова Т.Л., Семенов Д.А., Козлова В.С., Корнеева Л.С. Учебное пособие «Регенерация органов» стр. 70-82.
173. Глушков Н.И., Иванов М.А., Бондаренко П.Б., Зайцев В.В., Новицкая Т.А., Коплярова Н.С., Пиханова Ж.М., Шаповалов А.С., Афлитонов М.А., Гурина А.В. «Факторы риска развития и особенности течения периферической атеросклеротической болезни у женщин» - *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова* стр.68-72. 2014г.
174. Васин В.И., Ступин В.А., Корейба К.А., Ягжина В.Е., Сенина Е. Р., Селюто В.В., Силина Е.В. «К вопросу об эпидемиологии и лечении острых и хронических ран» - *Журнал Современная наука: актуальные проблемы теории и практики* №4, 2021г. стр. 70-74
175. Zhakhina G, Sakko Y, Yerdessov S, Aimyshev T, Makhammajanov Z, Abbay A, Vinnikov D, Fakhradiyev I, Yermakhanova Z, Solak Y, Salustri A, Gaipov A. Temporal Trends and Mortality Patterns in Peripheral Arterial Disease: A Comprehensive Analysis of Hospitalized Patients in Kazakhstan between 2014 and 2021. *J Epidemiol Glob Health*. 2024 Dec;14(4):1609-1618. doi: 10.1007/s44197-024-00313-6. Epub 2024 Oct 14. PMID: 39400655; PMCID: PMC11652560.
176. Урузбаева Г.А, Булегенов Т.А., Мусаханова А.К., Джусупов К.О, Ибекенов О.Т, Смаилова Ж.К., Байбусинова А.Ж., Иманбаев М.Н, Жарыкбасова Ф.Ж, Кусаинова А.С, Арманкызы А. «Retrospective analysis of patients with obliterating atherosclerosis of the lower extremity arteries in the abai region of the republic of Kazakhstan» *Журнал Наука и здравоохранение*. DOI: 10.34689/SH.2025.27.3.005.
177. Золоев Д.Г., Макаров Д.Н., Баранов А.И., Золоев Г.К., Васильченко Е.М. Пятилетняя выживаемость и результаты лечения хронической ишемии культы бедра. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2018;11:35-38. <https://doi.org/10.17116/hirurgia201811135>.
178. Зуйкова А.А., Хуторной Н.В., Котова Ю.А., Красноруцкая О.Н., Белозерова Е.В. «Распространенность хронических окклюзирующих заболеваний нижних конечностей у больных ишемической болезнью сердца» *Научно-практический журнал - Прикладные информационные аспекты медицины*, Т. 22, № 1. 2019 год. Стр. 110-114.

179. Яровенко Г.В., Каторкин С.Е., Россинская В.В. «Использование культуры дермальных фибробластов для стимуляции заживления язвенных дефектов при хронической венозной недостаточности нижних конечностей» Журнал «Флебология» 2022, том 16, № 2. Вып. 2 стр.61.
180. Блинова М.И., Хотин М.Г., Михайлова Н.А. «Роль фибробластов в регенерации кожной ткани при заживлении ран» Журнал Гены & Клетки Том XII, № 3, 2017 стр. 45
181. Shabunin A.V., Matveev D.V., Kuznetsov M.R., Matveev A.D. Conservative treatment of chronic lower limb ischemia in ambulatory practice. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova.* 2019;3(1):98-103. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/hirurgia201903198>
182. Kozhakhmetov Z.O, Sabitov Y.T., Toleutayev T., Kazymov Y., Salmenbayev Y., Imanbayev M., Pak L.A., Zhabagin K. - The problem of lower limb amputation in patients with critical ischemia: a literature review. «Science & Healthcare» 2022 (Vol. 24) 6. Стр. 161-169.
183. Morozov AM, Sergeev AN, Sergeev NA, Dubatolov GA, Ryzhova TS, Pakhomov MA, Peltikhina OV. Modern methods of stimulating process of postoperative wounds regeneration. *Siberian Medical Review.* 2020;(3):54-60. DOI: 10.20333/2500136-2020-3-54-60
184. Ким К.У., Баранова Н.А., Щеглов Б.О., Рева Г.В. Современные концепции о роли и представленности макрофагов в различных тканях организма // Клиническая и фундаментальная медицина. 2025. Т. 1, № 1. С. 71–79.
185. Zavgorodniaia MI, Makeieva LV, Slavcheva OS, Sulaieva ON. [Cellular and molecular basics of the wound healing]. *Morphologia.* 2016;10(3):1923.
186. Binienko M. A., Kotslova A. A., Davydenko V. V., Vlasov T. D. «Application of graftskin to accelerate healing of ulcers in diabetic foot syndrome», «Вестник хирургии» Том 175, № 5, 2016, стр. 63-68.
187. Sobolevskaya EV, Shumkov OA, Smagin MA, Guskov AE, Malysheva AV, Atuchin VV, Nimaev VV. Markers of Restenosis after Percutaneous Transluminal Balloon Angioplasty in Patients with Critical Limb Ischemia. *Int J Mol Sci.* 2023 May 22;24(10):9096. doi: 10.3390/ijms24109096. PMID: 37240440; PMCID: PMC10219416.
188. Просянникова Н.В., Липова Е.В., Покровский К.А., Тарасенко Г.Н. «Современные методы лечения длительно незаживающих ран кожи». *Российский журнал кожных и венерических болезней* стр. 47-51.
189. Инновационные технологии клеточной терапии в лечении длительно незаживающих язв нижних конечностей. Заявка № AP23485580. НЦГНТЭ г.Астана 2024г.
190. Оптимизация Способов хирургического лечения синдрома диабетической стопы. Отчет научно-исследовательской работы 2014г. №0214РК00239. Руководитель проекта Бекмухамбетов Е.Ж., исполнитель Акатаев Н.А. НАО «ЗКМУ им.М. Оспанова» г.Актобе

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Акт внедрения №9 - Комбинированные методы коррекции раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей. ТОО Национальный научный онкологический центр г.Астана июнь 2025г.

### АКТ № 9

внедрения результатов научно-исследовательской работы  
ТОО «Национальный Научный Онкологический Центр»  
НАО «Западно-Казахстанский Медицинский Университет имени Марата  
Оспанова».

**Наименование предложения:** «Комбинированный метод коррекции раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей».

**Работа включена:** На основании данных, полученных в ходе собственного исследования влияния комбинированного метода лечения на сроки заживления длительно незаживающих ран.

**Форма внедрения:** Использование комбинированного метода лечения раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей.

**Показания для применения метода:** Пациенты, сосудистого профиля с длительно незаживающими ранами нижних конечностей на фоне хронического облитерирующего заболевания артерий нижних конечностей.

**Противопоказанием является:**

**Абсолютные:** ОНМК, состояние шока, острая сердечнососудистая недостаточность.

**Относительные:** контрастиндуцированная нефропатия, болезнь почек, ХОБЛ тяжелой степени, гиповолемия.

**Ответственные за внедрение:**

Управляющий директор по науке и образованию ННОЦ – Чиналиев А.М.

Главный консультант по хирургии ННОЦ – д.м.н., профессор

Султаналиев Т.А.

Заведующий отделением сосудистой хирургии – к.м.н. Сагандыков И.Н.

Интервенционные рентгенхирурги – Хасенов Д.Т., Кенжин А.Т., Даумен

А.А., Касымов М.А., Шаймерден Е.М.

Сосудистые хирурги – Джусубалиев Е.И., Акжигитова М.Т., Сабырулы Д.

**Эффективность внедрения:** снижение сроков заживления ран, сокращение риска ампутаций нижних конечностей.

**Предложения, замечания:** проведение данного комбинированного метода лечения требует получения согласия пациента, опекунов, либо родственников пациента.

**Период внедрения:** 2023-2024 года

**Исполнители:**

- Докторант PhD НАО «ЗКМУ им.М.Оспанова» – Чиналиев А.М.

**Председатель комиссии:**

Заместитель председателя правления  
по медицинской деятельности

**Ответственные за внедрение:**

Управляющий директор по науке и образованию ННОЦ – Чиналиев А.М.

**Исполнители:**

Врач-рентгенхирург – Хасенов Д.Т.

Врач-рентгенхирург – Кенжин А.Т.

Врач-рентгенхирург – Даумен А.А.

Врач-рентгенхирург – Касымов М.А.

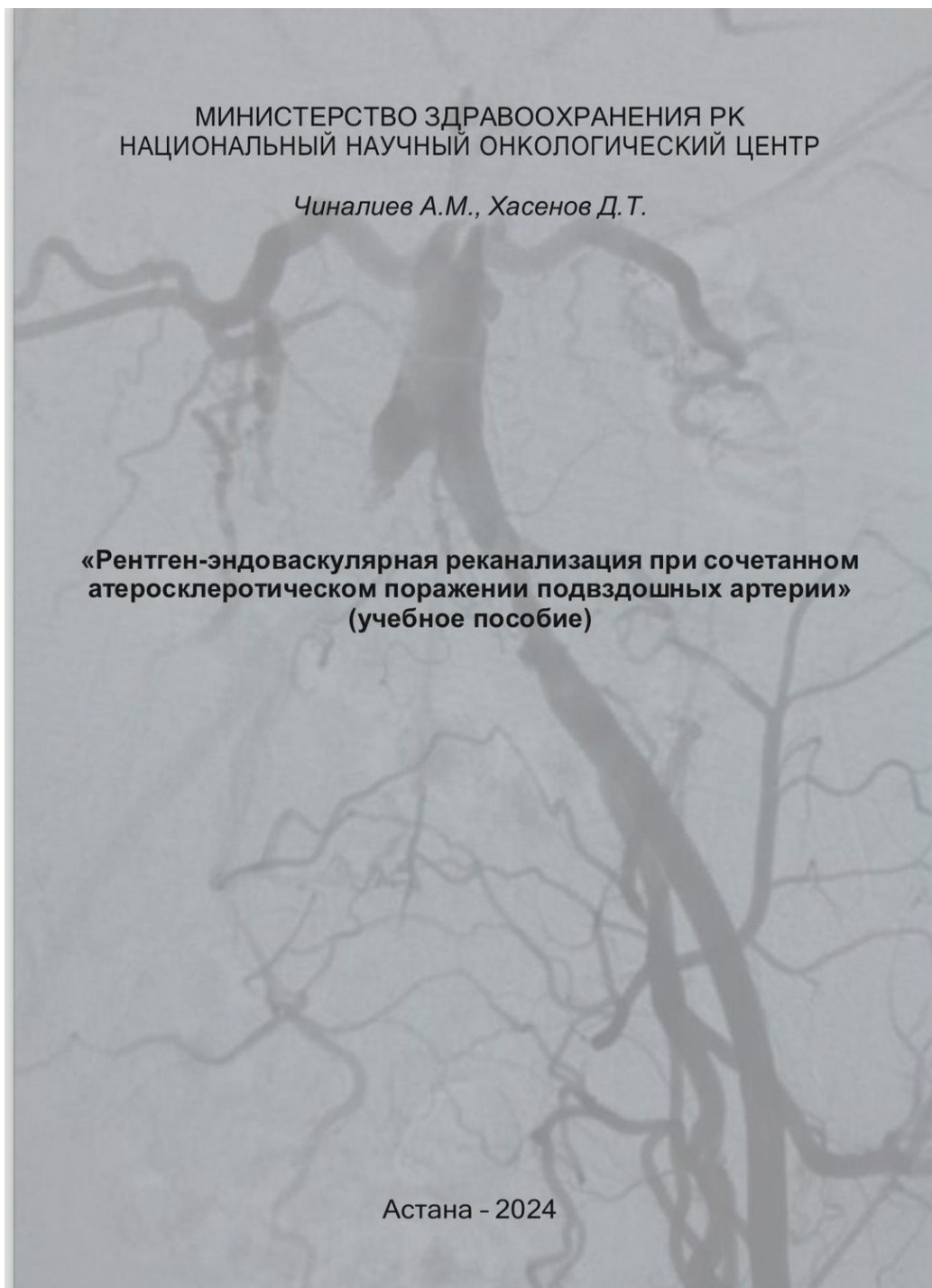
Врач-рентгенхирург – Шаймерден Е.М.



Мукажанов А.К.

## **ПРИЛОЖЕНИЕ Б**

Учебно-методическое пособие от 12 января 2024г. Название объекта: «Рентген-эндоваскулярная реканализация при сочетанном атеросклеротическом поражении подвздошных артерий».



## ПРИЛОЖЕНИЕ В

Авторское свидетельство - №41995 от 12 января 2024г. Название объекта: «Рентген-эндоваскулярная реканализация при сочетанном атеросклеротическом поражении подвздошных артерий».



## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Подана заявка на получение патента на изобретение «Способ коррекции раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей» № 2025/0718.1 от 31.07.2025, которая прошла формальную экспертизу и находится на стадии экспертизы по существу



3667134

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ  
ӘДІЛЕТ МИНИСТРЛІГІ ЗИЯТКЕРЛІК  
МЕНШІК ҚҰҚЫҒЫ КОМИТЕТІНІҢ  
«ҰЛТТЫҚ ЗИЯТКЕРЛІК МЕНШІК  
ИНСТИТУТЫ»  
ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ  
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ  
МЕМЛЕКЕТТІК КӘСПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ  
ХОЗЯЙСТВЕННОГО ВЕДЕНИЯ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ»  
КОМИТЕТА ПО ПРАВАМ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Мекенішік Ел даңғылы, 57А, п.б. 8, Есіп ауданы,  
Астана қаласы, Қазақстан Республикасы, 010000  
Тел: (7172) 62 15 04 62 15 91,  
<http://www.kazpatent.kz>, e-mail: [kazpatent@kazpatent.kz](mailto:kazpatent@kazpatent.kz)

Проспект Манғашық Ел, адыме 57А, п.п. 8, район Есіп,  
город Астана, Республика Казахстан, 010000  
Тел: (7172) 62 15 04 62 15 91,  
<http://www.kazpatent.kz>, e-mail: [kazpatent@kazpatent.kz](mailto:kazpatent@kazpatent.kz)

№2025-66476, 15.09.2025

Суюндуков Мади Жмайевич  
улица Кайым Мухамедханов 17, 408, город  
Астана, Z05T6B2  
[madi.mad.mads@gmail.com](mailto:madi.mad.mads@gmail.com)

При переписке просим ссылаться на заявку  
№ 2025/0718.1 от 31.07.2025

(74) Суюндуков Мади Жмайевич

### *Уведомление о положительном результате формальной экспертизы*

Настоящим РГП «НИИС» уведомляет заявителя о том, что формальная экспертиза по заявке на изобретение «Способ коррекции раневого процесса при длительно незаживающих ранах у пациентов с хроническим облитерирующим заболеванием артерий нижних конечностей» завершена.

- (21) 2025/0718.1
- (22) 31.07.2025
- (71) Чиналиев Азат Мырзабаевич (KZ)
- (72) Чиналиев Азат Мырзабаевич (KZ); Сапарбаев Самат Сагатович (KZ); Султаналиев Токан Анарбекович (KZ); Жакиев Базылбек Сагидоллиевич (KZ); Буркитбаев Жандос Конысович (KZ)

Подписано ЭЦП:

О. Жұбанов (Заместитель руководителя управления)  
Г. Қылышбаева (Главный эксперт)