

## Использование гипоксического preconditionирования для подготовки аутодермотрансплантата у больных со скомпрометированной микроциркуляцией

С.Г. Измайлов<sup>1, 2</sup>, В.В. Бесчастнов<sup>1, 2</sup>, М.В. Багрянцев<sup>1, 2</sup>, Н.А. Щелчкова<sup>2</sup>, А.А. Миронов<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ НО «Городская клиническая больница № 30 Московского района»;

Россия, 603157, Нижний Новгород, ул. Березовская, 85а;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России;

Россия, 603950, ГСП-470, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»;

Россия, 603950, Нижний Новгород, проспект Гагарина, 23

**Контакты:** Максим Владимирович Багрянцев [taks-bagryantsev@mail.ru](mailto:taks-bagryantsev@mail.ru)

**Цель исследования** – изучение влияния концентрации в донорской области цитокина HIF-1α на процессы репаративной регенерации при свободной аутодермопластике расщепленным кожным трансплантатом у больных с патологией микроциркуляторного русла и улучшение результатов аутодермопластики путем локальной стимуляции выработки HIF-1α в целях подготовки трансплантата к условиям гипоксии.

**Материалы и методы.** В эксперименте гипотезу влияния локальной циркуляторной гипоксии на концентрацию HIF-1α проверили на 18 белых беспородных крысах-самцах массой тела 250–300 г. Уровень микроциркуляции контролировали методом лазерной доплеровской флоуметрии. Критериями, позволяющими оценить правильность гипотезы, явились данные иммуноферментного анализа. В клинике использовали предложенный способ при лечении 18 больных с синдромом диабетической стопы, требовавшим выполнения кожно-пластических операций, сравнивая с результатами лечения 22 больных, у которых свободную аутодермопластику выполняли традиционным способом.

**Результаты.** Выявлена статистически значимая разница в концентрации цитокина HIF-1α в коже донорской области при подготовке ее к условиям гипоксии предложенным способом. Данные эксперимента подтверждены в клинике. В основной группе после выполнения свободной аутодермопластики по разработанной методике жизнеспособность трансплантата сохранялась на Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>) 84 (78; 93) % его площади. В контрольной группе приживление отмечено на Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>) 72 (65; 79) % площади трансплантата (p = 0,012).

**Ключевые слова:** диабет, рана, дефект, гипоксия, аутодермопластика, гипоксическое preconditionирование, HIF-1α, лазерная доплеровская флоуметрия, репаративная регенерация, иммуноферментный анализ

**Для цитирования:** Измайлов С.Г., Бесчастнов В.В., Багрянцев М.В. и др. Использование гипоксического preconditionирования для подготовки аутодермотрансплантата у больных со скомпрометированной микроциркуляцией. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б.М. Костюченко 2016;3(2):47–54.

DOI: 10.17 650/2408-9613-2016-3-2-47-54

### The use of hypoxic preconditioning to prepare autodermograft for patients with compromised microcirculation

S.G. Izmaylov<sup>1, 2</sup>, V.V. Beschastnov<sup>1, 2</sup>, M.V. Bagryantsev<sup>1, 2</sup>, N.A. Shchelchkova<sup>2</sup>, A.A. Mironov<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>City Clinical Hospital No 30, Moscow Region; 85a Berezovskaya St., Nizhniy Novgorod, 603157, Russia;

Nizhniy Novgorod State Medical Academy, Ministry of Health of Russia;

10/1 Minina i Pozharskogo Sqare, Nizhniy Novgorod, GSP-470, 603950, Russia;

<sup>3</sup>N.I. Lobachevskiy State University of Nizhniy Novgorod; 23 Prospect Gagarina, Nizhniy Novgorod, 603950, Russia

**Objective:** to study the impact of the concentration of cytokine HIF-1α in the donor area on the processes of reparative regeneration in free autodermografting by split-thickness skin graft for patients with disorders of the microvasculature and to improve results of autodermografting by local stimulation of HIF-1α to prepare skin graft to hypoxia conditions.

**Materials and methods.** The hypothesis of the influence of the local circulatory hypoxia on the concentration of HIF-1α was checked in the experiment with 18 white outbred male rats weighing 250–300 g. The microcirculation level was controlled by laser doppler flowmetry method. The indications to appraise the correctness of the hypothesis were analytical data of Enzyme Multiplied Immunoassay. This method of treatment was used in the clinic, where 18 patients with diabetic foot infections syndrome needed dermatoplastic surgery, and compared with the results of treatment of 22 patients with free autodermografting performed by traditional way.

**Results.** It is identified the significant difference in concentration of cytokine HIF-1α in the donor skin area in preparation it for hypoxia conditions by proposed method. The experimental data are confirmed in the clinic. After the free autodermografting based on developed tech-

nique in the main group the viability of grafter was preserved on Me ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ) 84 (78; 93) % of its area. In the control group graft acceptance is registered on Me ( $Q_1$ ;  $Q_3$ ) 72 (65; 79) % of grafter area ( $p = 0.012$ ).

**Key words:** diabetes, wound, defect, hypoxia, autodermografting, hypoxic preconditioning, HIF-1 $\alpha$ , laser doppler flowmetry, reparative regeneration, enzyme multiplied immunoassay

**For citation:** Izmaylov S.G., Beschastnov V.V., Bagryantsev M.V. et al. The use of hypoxic preconditioning to prepare autodermografter for patients with compromised microcirculation. *Wounds and Wound Infections. The Prof. B.M. Kostyuchenok Journal* 2016;3(2):47–54.

## Введение

Раневые дефекты, возникшие у пациентов со скомпрометированным микроциркуляторным руслом, например у больных сахарным диабетом, составляют особую проблему хирургии. Отличительной чертой таких дефектов является длительное, упорное течение, причиной которого служит поражение кровеносных сосудов, в частности микроангиопатия. Патогенез диабетической микроангиопатии многокомпонентен: гипергликемия нарушает обмен мукополисахаридов и индуцирует накопление гликопротеинов и липопротеидов низкой плотности в базальной мембране артериол, которая утолщается и препятствует диффузии кислорода в ткани, а связывание избытка глюкозы с гемоглобином, образование сорбитола, нарушение перекисного окисления липидов, накопление свободных радикалов способствуют отеку и тканевой гипоксии [1]. Существенным патогенетическим фактором заживления ран при сахарном диабете является снижение на фоне гипоксии ангиогенеза и клеточной пролиферации [2].

Закрытие дефектов мягких тканей у больных с синдромом диабетической стопы выполняют различными способами, при этом одним из наиболее распространенных является свободная кожная пластика. Однако способ имеет известный недостаток: при его использовании у больных сахарным диабетом, т. е. в условиях скомпрометированного на микроциркуляторном уровне кровоснабжения тканей реципиентной зоны, высока вероятность некроза трансплантата на фоне тканевой гипоксии.

Одним из предложенных решений этой проблемы явился способ подготовки донорских участков при выполнении кожной пластики [3], который включает введение в подкожную клетчатку донорского участка озонированного (содержание озона 160–200 мкг) физиологического раствора в объеме 150–200 мл за 10–15 мин до срезания трансплантатов. Однако известно, что период полураспада озона в физиологическом растворе составляет 30 мин [4], а введение озонированного раствора в целях профилактики ишемических некрозов эффективно в течение 3–4 ч, после чего раствор теряет способность отдавать кислород тканям. При таком способе воздействия на донорскую область кожный трансплантат, находившийся в условиях

гипероксии, переходит в гипоксическое состояние, что является серьезным стрессом и может само по себе вызвать некробиотические изменения. Таким образом, до настоящего момента не найдено адекватного решения проблемы подготовки кожи к пересадке в условиях скомпрометированной микроциркуляции.

В то же время известно, что гипоксическая тренировка, или так называемое гипоксическое preconditionирование, позволяет тканям значительно эффективнее противостоять недостатку кислорода [4]. Адаптация к гипоксии представляет собой комплекс регуляторно-компенсаторных механизмов, позволяющий в срочном или отсроченном порядке уменьшить эффект нарушения потребления кислорода. Гипоксическое preconditionирование является профилактической мерой и заключается в кратковременном неповреждающем гипоксическом или ишемическом воздействии, приводящем к выраженной устойчивости к более тяжелому уровню ишемии.

В условиях ишемии в тканях процесс адаптации контролируется, прежде всего, специфическим кислородочувствительным белком HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ); последними исследованиями подтверждена его роль в заживлении ран, в частности диабетических [5, 6]. Этот фактор, накапливаясь в тканях в условиях гипоксии, отвечает за экспрессию белков, контролирующих доставку кислорода в клетку. HIF-1 $\alpha$  ингибирует окислительный стресс и действие воспалительных факторов и влияет на частоту выживания трансплантата у крыс [7]. Он является ключевым регулятором транскрипции для нескольких факторов ангиогенеза, в частности, индукция HIF-1 $\alpha$  вызывает экспрессию генов-мишеней, в том числе фактора роста эндотелия сосудов [8–10]. Тканевая гипоксия имеет большое значение в заживлении ран, поскольку она обычно играет ключевую роль в регуляции всех процессов, участвующих в репарации тканей, а HIF-1 $\alpha$  является критическим фактором транскрипции, который регулирует адаптивные реакции к гипоксии. Накопление в тканях HIF-1 $\alpha$  — необходимое и достаточное условие для стимулирования заживления ран в диабетической среде [11, 12].

**Целью исследования** явилось изучение влияния концентрации в донорской области цитокина HIF-1 $\alpha$  на процессы репаративной регенерации при свободной

аутодермопластике расщепленным кожным трансплантатом у больных с патологией микроциркуляторного русла и улучшение результатов аутодермопластики путем локальной стимуляции выработки HIF-1 $\alpha$  в целях подготовки трансплантата к условиям гипоксии.

### Материалы и методы

Объектом исследования явились процессы репаративной регенерации при свободной аутодермопластике расщепленным кожным трансплантатом у больных с патологией микроциркуляторного русла. Предметом исследования в эксперименте послужили данные об изменениях концентрации HIF-1 $\alpha$  в условиях локального гипоксического preconditionирования, в клинике — качество приживления трансплантата в реципиентной зоне в условиях локального гипоксического preconditionирования. Рабочая гипотеза заключалась в том, что при поэтапном формировании кожного трансплантата в условиях сформированной локальной циркуляторной дозированной гипоксии на фоне снижения микроциркуляции происходит активация HIF-1 $\alpha$ , что приводит к повышению устойчивости трансплантата к гипоксии и увеличению площади прижившейся кожи.

В эксперименте гипотезу влияния локальной гипоксии на концентрацию HIF-1 $\alpha$  проверили на 18 белых беспородных крысах-самцах массой тела 250–300 г. У животных моделировали донорскую зону для забора трансплантата путем формирования участка кожи, находящегося в условиях гипоксии, между 2 разрезами кожи длиной 2 см на расстоянии 1 см друг от друга (т.е. размеры участка составляли 1  $\times$  2 см) на боковой поверхности обеих нижних конечностей животного. Участок кожи с левой конечности направляли на иммуноферментный анализ непосредственно после нанесения ран (контрольная группа). На правой конечности раны ушивали, через 24 ч иссекали участок кожи между разрезами и также направляли на иммуноферментный анализ (основная группа).

Критерием, позволяющим оценить правильность гипотезы, явились данные иммуноферментного анализа: содержание HIF-1 $\alpha$  в коже экспериментальных животных определяли с помощью коммерческого набора ELISA Kit for Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha (HIF1- $\alpha$ ) SEA798Ra для гомогенатов тканей фирмы Cloud-Clone Corp. (КНР). Уровень микроциркуляции контролировали методом лазерной доплеровской флоуметрии с помощью лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02.

В клинике использовали предложенный способ при лечении 18 больных с синдромом диабетической стопы, требовавшим выполнения кожно-пластических операций (основная группа), сравнивая с результатами лечения 22 больных (контрольная группа),

у которых свободную аутодермопластику выполняли традиционным способом. Готовность реципиентной раны к аутодермопластике определяли с помощью балльной шкалы оценки готовности грануляционной ткани к свободной аутодермопластике НИИ им. И.И. Джанелидзе; при 17–18 баллах рану считали готовой к свободной аутодермопластике.

Предложенный способ осуществляли следующим образом. В донорской области (передне-латеральная поверхность бедра) выполняли 2 параллельных разреза кожи и подкожной клетчатки до поверхностной фасции таким образом, чтобы расстояние между разрезами было не менее 5 см, а длина разрезов превышала расстояние между ними в 2 раза. Проводили контроль микроциркуляции методом лазерной доплеровской флоуметрии, при необходимости мобилизуя участок кожи, находящейся в условиях локальной циркуляторной гипоксии (мобилизация всей толщи кожи), для того чтобы добиться снижения показателя микроциркуляции до уровня 40–50 % от исходного, т.е. компенсированной гипоксии. При значении показателя микроциркуляции менее 40 % от исходного выраженной стимуляции пролиферативной активности не происходит, более 50 % — высок риск развития критической ишемии с формированием некрозов. После формирования области гипоксии на разрезы накладывали внутрикожные косметические швы.

Для статистической обработки полученных данных использовали компьютерную программу Statistica 6.0. Для статистического анализа количественных данных в зависимых выборках применяли критерий Вилкоксона, в независимых — критерий Манна–Уитни. Выборочные параметры, приводимые далее, имеют следующие обозначения: Me — медиана, Q<sub>1</sub> — верхний квартиль, Q<sub>3</sub> — нижний квартиль,  $p$  — величина статистической значимости различий. Критическое значение уровня значимости принимали равным 5 % ( $p \leq 0,05$ ).

### Результаты

В основной группе в эксперименте через 24 ч после создания условий локальной циркуляторной гипоксии в коже отмечено увеличение концентрации HIF-1 $\alpha$  (Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>) 437,6 (333,7; 545,6) нг/мл) по сравнению с контрольной группой (Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>) 238,6 (200,4; 261,5) нг/мл;  $p = 0,01$ ). Таким образом, при анализе результатов эксперимента выявлена статистически значимая разница в концентрации цитокина HIF-1 $\alpha$  в коже донорской области при подготовке ее к условиям гипоксии предложенным способом. Это свидетельствует о том, что в тканях, находящихся между 2 параллельными разрезами, нарушается микроциркуляция и возникает циркуляторная компенсированная гипоксия. В условиях компенсированной гипоксии при гипоксическом preconditionировании

происходит накопление цитокинов, в первую очередь HIF-1 $\alpha$ .

Данные эксперимента подтверждены в клинике. В основной группе после выполнения свободной аутодермопластики по разработанной методике жизнеспособность трансплантата сохранялась на 84 (78; 93) % его площади. В контрольной группе приживление отмечено на 72 (65; 79) % площади трансплантата ( $p = 0,012$ ).

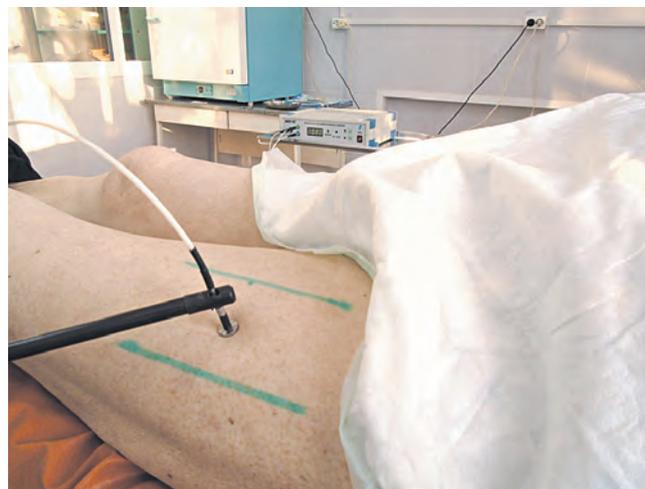
### Клинический случай 1

**Больной М.,** 1942 г. р., поступил в отделение гнойной хирургии ГБУЗ НО «ГКБ № 30 Московского района» 25.12.2015 с диагнозом: сахарный диабет 2-го типа, инсулинозависимый. Синдром диабетической стопы, нейроишемическая форма, II стадия по Wagner, диабетическая микроангиопатия. Состояние после ампутации IV пальца правой стопы в августе 2015 г. Состояние после эндоваскулярной катетерной баллонной ангиопластики бедренно-подколенно-берцового сегмента правой нижней конечности 24.07.2015. Длительно незаживающая рана правой стопы. Ишемическая болезнь сердца, атеросклеротический кардиосклероз, постинфарктный кардиосклероз (инфаркт миокарда в 2014 г.), фибрилляция предсердий, пароксизмальная форма, хроническая сердечная недостаточность III стадии, гипертоническая болезнь III стадии, II степени, риск сердечно-сосудистых осложнений 4. Хронический гастродуоденит. Цереброваскулярная болезнь. Дисциркуляторная энцефалопатия II степени. Состояние после острого нарушения мозгового кровообращения (2012 г.). Жалобы на наличие незаживающей раны правой стопы (рис. 1).



**Рис. 1.** Послеоперационная рана тыльной поверхности правой стопы после подготовки к свободной аутодермопластике (17 баллов по шкале готовности раны к свободной аутодермопластике НИИ им. И.И. Джanelidze)

**Fig. 1.** Postoperative wound of dorslim of the right foot after preparation for the free autodermografting (17 points on a scale of readiness wounds for the free autodermografting, I.I. Janelidze Research Institute)



**Рис. 2.** Измерение исходного показателя микроциркуляции (ПМ) перед оперативным вмешательством с помощью аппарата ЛАКК-02 (ПМ 4,4 пф. ед.)

**Fig. 2.** The measurement of microcirculation initial index before surgery using LAKK-02 system (microcirculation index 4.4 perfusion units)

**Местный статус:** кожные покровы обеих нижних конечностей телесного цвета, отека нет. Обе нижние конечности теплые на ощупь. Аускультативно в проекции магистральных сосудов шумы выслушиваются. Активные и пассивные движения в голеностопных суставах в полном объеме, безболезненные. Пальпация мышц обеих голеней безболезненная. Пульсация магистральных артерий определяется на обеих нижних конечностях на всех уровнях. Рана тыльной поверхности правой стопы трапецевидной формы, размерами 5,0  $\times$  2,5 см, глубиной до 0,2 см, дно раны покрыто фибрином светло-желтого цвета, некротическими тканями, отделяемое скудное, серозно-гнойное.

**Общее состояние** средней степени тяжести. Результаты посева раневого отделяемого правой стопы: *Staphylococcus epidermidis*,  $10^2$  КОЕ/мл, чувствительный к цефалоспорином, фторхинолонам.

По данным рентгенографии правой стопы — диабетическая артропатия плюснефаланговых суставов II–III степени.

Проведено стандартное лечение: консервативная инфузионная вазотропная (пентоксифиллин), анальгетическая (кетопрофен), спазмолитическая (но-шпа), антиоксидантная (тиоктовая кислота) терапия; а также местное лечение — ежедневные перевязки, включающие удаление фибрина острым путем, местная протеолитическая терапия (Химотрипсин — 20 мг), асептические повязки с водным раствором Хлоргексидина.

Первый этап кожной пластики выполнен 05.01.2016 под контролем лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02. Значение показателя микроциркуляции в донорской области составило 4,4 перфузионных единицы (пф. ед.) (рис. 2).



**Рис. 3.** Рана донорской области после оперативного вмешательства в условиях локальной циркуляторной гипоксии (показатель микроциркуляции 2,2 пф. ед.)

**Fig. 3.** The donor area wound after surgery in local circulatory hypoxia conditions (microcirculation index 2.2 perfusion units)

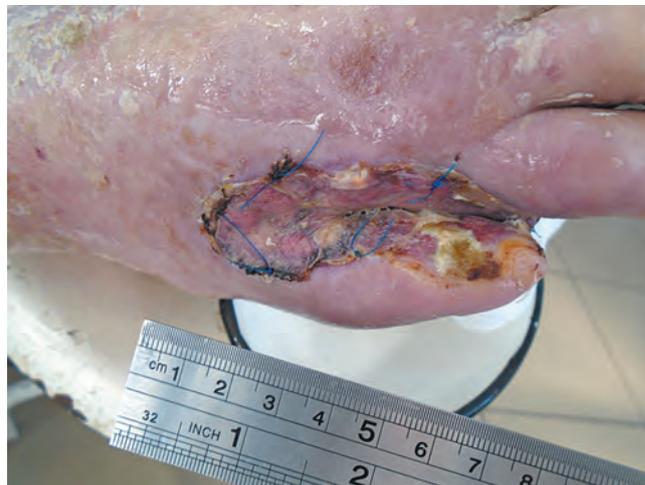
Формировали условия локальной циркуляторной компенсированной гипоксии на передне-наружной поверхности правого бедра путем проведения 2 параллельных разрезов кожи и подкожной клетчатки до поверхностной фасции таким образом, что расстояние между разрезами составило 5 см, а длина разрезов – 10 см. Участок кожи, находящийся в условиях локальной циркуляторной компенсированной гипоксии, мобилизован под контролем показателя микроциркуляции, после чего на разрезы наложен внутрикожный косметический шов. Зарегистрировано снижение значений показателя микроциркуляции до уровня 2,2 пф. ед. (50 % от исходного) (рис. 3).

Через 24 ч выполнена свободная кожная пластика перфорированным дерматомным трансплантатом



**Рис. 4.** Аутодермотрансплантат на реципиентной ране, фиксированный узловыми швами, в день операции

**Fig. 4.** The autodermograft on recipient wound fixed with interrupted sutures, the day of surgery



**Рис. 5.** Вид аутодермотрансплантата на 6-е сутки после оперативного вмешательства

**Fig. 5.** The view of autodermograft on the 6<sup>th</sup> day after surgery

(дерматом ДПЭ-60-2 с возвратно-поступательным движением ножа) толщиной 0,3 мм, который был взят с участка между разрезами (рис. 4). На донорскую рану наложена повязка с Бранолиндом Н, сверху – асептическая повязка с водным раствором Хлоргексидина. На реципиентную рану наложена повязка с Бранолиндом Н, шариками со стерильным раствором вазелинового масла, сверху – асептическая повязка с водным раствором Хлоргексидина. Первую перевязку донорской зоны проводили на 3-и сутки, реципиентной зоны – на 6-е сутки после оперативного вмешательства, ориентируясь



**Рис. 6.** Эпителизация раны тыльной поверхности правой стопы на 30-е сутки после оперативного вмешательства

**Fig. 6.** Epithelization of wound of dorslim of the right foot on the 30<sup>th</sup> day after surgery

прежде всего на степень экссудации повязки. На 6-е сутки после операции при смене повязки зарегистрировано приживление трансплантата на 95 % площади (рис. 5). Следующие перевязки проводили через сутки с Бранолиндом Н, водным раствором Хлоргексидина на донорскую и реципиентную раны. На 30-е сутки после оперативного вмешательства отмечали полную эпителизацию раны (рис. 6).

### Клинический случай 2

**Больная Р.**, 1950 г.р., поступила в отделение гнойной хирургии ГБУЗ НО «ГКБ № 30 Московского района» 25.12.2015 с диагнозом: сахарный диабет 2-го типа, инсулинозависимый. Синдром диабетической стопы, нейроишемическая форма, II стадия по Wagner, диабетическая микроангиопатия. Состояние после эндоваскулярной катетерной баллонной ангиопластики передней большеберцовой и малоберцовой артерий левой нижней конечности 05.10.2015. Длительно незаживающая рана тыла правой стопы. Ишемическая болезнь сердца, атеросклеротический кардиосклероз, хроническая сердечная недостаточность III стадии, гипертоническая болезнь III стадии, II степени, риск сердечно-сосудистых осложнений 4. Жалобы на наличие незаживающей раны тыла правой стопы.

**Местный статус:** кожные покровы обеих нижних конечностей телесного цвета, умеренный отек тыла правой стопы. Пальпация мышц обеих голеней безболезненная. Пульсация магистральных артерий определяется на обеих нижних конечностях на всех уровнях. Рана тыльной поверхности правой стопы в форме неправильного четырехугольника, размерами 6 × 3 см, глубиной до 0,2 см, дно раны представлено фибрином светложелтого цвета, некротическими тканями; отделяемое из раны скудное, серозно-гнойное (рис. 7).

**Результаты посева раневого отделяемого правой стопы:** *Klebsiella pneumoniae* 10<sup>4</sup> КОЕ/мл, чувствительная к фторхинолонам. Проводили антибактериальную (Ципрофлоксацин), антиагрегантную (пентоксифиллин), антикоагулянтную (сулодексид), антиоксидантную



Рис. 7. Дефект кожи тыльной поверхности левой стопы  
 Fig. 7. Skin defect of dorsum of the left foot

(тиоктовая кислота) терапию, инсулинотерапию. **Местное лечение:** ежедневные перевязки, включающие удаление фибрина острым путем, местная протеолитическая терапия (Химотрипсин 20 мг), асептические повязки с водным раствором Хлоргексидина.

По шкале НИИ им. И.И. Джанелидзе готовность реципиентной зоны к свободной аутодермопластике оценена в 17 баллов.

Первый этап кожной пластики выполнен 25.12.2015 под контролем лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02, значение показателя микроциркуляции в донорской области составило 5,2 пф. ед. Участок кожи на передне-наружной поверхности правого бедра ввели в состояние циркуляторной компенсированной гипоксии 2 параллельными разрезами кожи и подкожной клетчатки до поверхностной фасции таким образом, что расстояние между разрезами составило 5 см, а длина разрезов — 10 см. Участок кожи мобилизован под контролем состояния микроциркуляции до уровня значений показателя микроциркуляции 2,1 пф. ед. (40 % от исходного), после чего на разрезы наложен внутрикожный косметический шов (рис. 8).

Через 12 ч выполнена свободная кожная пластика перфорированным дерматомным трансплантатом толщиной 0,3 мм, взятым с участка между разрезами. На донорскую рану накладывали асептическую повязку с Бранолиндом Н, водным раствором Хлоргексидина, на реципиентную — асептическую повязку с Бранолиндом Н, шариками со стерильным вазелиновым маслом, водным раствором Хлоргексидина. На 2-е сутки проводили смену повязки донорской зоны, на 6-е сутки — смену повязки реципиентной зоны. Отмечали приживление трансплантата на 94 % площади (рис. 9). На донорскую и реципиентную раны накладывали повязки с Бранолиндом Н в течение 14 дней от момента операции, с водным раствором Хлоргексидина — до заживления, смену



Рис. 8. Рана донорской области после оперативного вмешательства в условиях локальной циркуляторной гипоксии (показатель микроциркуляции 2,1 пф. ед.)

Fig. 8. The donor area wound after surgery in local circulatory hypoxia conditions (microcirculation index 2.1 perfusion units)



Рис. 9. Приживление аутодермотрансплантата на 94 %, 6-е сутки после оперативного вмешательства

Fig. 9. The viability of grafter at 94 %, the 6<sup>th</sup> day after surgery



Рис. 10. Реципиентная рана тыльной поверхности левой стопы через 3 мес после оперативного вмешательства

Fig. 10. The recipient wound of dorslim of the left foot at 3 months after surgery



Рис. 11. Вид реципиентной зоны области тыла левой стопы через 6 мес после оперативного вмешательства

Fig. 11. The view of the recipient area of dorslim of the left foot at 6 months after surgery

повязок осуществляли через сутки. Через 3 мес после операции отмечена эпителизация раны (рис. 10), через 6 мес после вмешательства — полное заживление раны (рис. 11).

### Обсуждение

Подготовка аутодермотрансплантата к пересадке является одной из классических проблем пластической хирургии. Попытки гипоксической тренировки трансплантата предпринимались и ранее, но лишь для подготовки полнослойного лоскута на ножке. Так, известен способ тренировки кожного лоскута к гипоксии перед местной пластикой путем поэтапного формирования — так называемый метод delay [13]. Суть операции заключается в стимуляции роста сосудов на фоне снижения кровоснабжения в подготовленном участке кожи. С точки зрения безопасности (меньшая длительность операции, меньший объем кровопотери, более безопасный вид анестезии), особенно для такой тяжелой категории больных, как пациенты с сахарным диабетом и множественными сопутствующими заболеваниями, всегда следует стремиться к выполнению более простых видов реконструктивно-пластических вмешательств, особенно если раны расположены не на опорных поверхностях и не в функционально активных зонах, когда метод свободной аутодермопластики является операцией выбора. В предлагаемом нами способе после тренировки выполняют свободную кожную пластику расщепленным трансплантатом, при этом этапов только 2 — формирование участка кожи в условиях гипоксии и взятие трансплантата. Период между операциями сокращен до 24 ч, так как задача заключается не в формировании сети новообразованных сосудов, а в создании депо цитокинов, в первую очередь HIF-1 $\alpha$ . Длина разрезов не должна превышать удвоенное расстояние между ними, поскольку при большей длине разрезов участок кожи может оказаться в условиях критической ишемии [14]. В результате применения предложенного способа в тканях, находящихся между 2 параллельными разрезами, ухудшается микроциркуляция и возникает циркуляторная компенсированная гипоксия. В условиях компенсированной гипоксии происходит накопление цитокинов, в первую очередь HIF-1 $\alpha$ . При периоде времени менее 12 ч в тканях не успевает в достаточной мере сформироваться депо цитокинов, влияющих на пролиферативную активность, при периоде времени более 24 ч компенсаторные процессы в организме, в частности развитие коллатерального кровотока, приводят к восстановлению кровоснабжения донорского участка.

Сравнительный анализ разработанного и традиционных способов показывает, что для подготовки

трансплантата для свободной аутодермопластики по предложенной методике у больных со скомпрометированной микроциркуляцией не вводят препарат, действующий на процессы репаративной регенерации локально и кратковременно, а индуцируют образование эндогенных цитокинов, повышающих жизнеспособность тканей, путем создания локальной циркуляторной тканевой гипоксии.

### Заключение

Таким образом, применение принципа гипоксического прекондиционирования в отношении свободной кожной пластики является перспективным. Разработанный способ обеспечивает улучшение приживления трансплантата за счет его адаптации к условиям приживления в реципиентной зоне с исходно скомпрометированной микроциркуляцией.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kasznicki J., Kosmowski M., Sliwinski A. et al. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Mol Biol Rep* 2012;39(9):8669–78. DOI: 10.1007/s11033-012-1722-9. PMID: 22718504.
2. Gao W., Ferguson G., Connell P. et al. High glucose concentrations alter hypoxia-induced control of vascular smooth muscle cell growth via a HIF-1 $\alpha$ -dependent pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2007;42(3):609–19. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2006.12.006. PMID: 17321542.
3. Аминев В.А., Докукина Л.Н., Перетягин С.П. Способ подготовки донорских участков при выполнении кожной пластики. Патент РФ на изобретение № 2392885. [Aminev V.A., Dokukina L.N., Peretyagin S.P. A method of preparation of donor sites performing skin grafting. RF patent for the invention No 2392885. (In Russ.)].
4. Физиотерапия: национальное руководство. Под ред. Г.Н. Пономаренко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 252 с. [Physiotherapy: national guidance. Ed. by G.N. Ponomarenko. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 252 p. (In Russ.)].
5. Lukyanova L.D., Germanova E.L., Kopaladze R.A. Development of resistance of an organism under various conditions of hypoxic preconditioning: role of the hypoxic period and reoxygenation. *Bull Exp Biol Med* 2009;147(4):400–4. PMID: 19704933.
6. Ke Q., Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). *Mol Pharmacol* 2006;70(5):1469–80. PMID: 16887934.
7. Yu D.H., Mace K.A., Hansen S.L. et al. Effects of decreased insulin-like growth factor-1 stimulation on hypoxia inducible factor 1- $\alpha$  protein synthesis and function during cutaneous repair in diabetic mice. *Wound Repair Regen* 2007;15(5):628–35. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00274.x. PMID: 17971008.
8. Duscher D., Maan Z.N., Whittam A.J. et al. Fibroblast-specific deletion of hypoxia inducible factor-1 critically impairs murine cutaneous neovascularization and wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2015;136(5):1004–13. DOI: 10.1097/PRS.0000000000001699. PMID: 26505703.
9. Chen G.J., Chen Y.H., Yang X.Q., Li Z.J. Nano-microcapsule basic fibroblast growth factor combined with hypoxia-inducible factor-1 improves random skin flap survival in rats. *Mol Med Rep* 2016;13(2):1661–6. DOI: 10.3892/mmr.2015.4699. PMID: 26707180.
10. Leung K.W., Ng H.M., Tang M.K. et al. Ginsenoside-Rg1 mediates a hypoxia-independent upregulation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  to promote angiogenesis. *Angiogenesis* 2011;14(4):515–22. DOI: 10.1007/s10456-011-9235-z. PMID: 21964931.
11. Ahluwalia A., Tarnawski A.S. Critical role of hypoxia sensor – HIF-1 $\alpha$  in *VEGF* gene activation. Implications for angiogenesis and tissue injury healing. *Curr Med Chem* 2012;19(1):90–7. PMID: 22300081.
12. Botusan I.R., Sunkari V.G., Savu O. et al. Stabilization of HIF-1 $\alpha$  is critical to improve wound healing in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(49):19426–31. DOI: 10.1073/pnas.0805230105. PMID: 19057015.
13. Золтан Я. Пересадка кожи. Будапешт: Издательство академии наук Венгрии Akademiai ADO-BUDAPEST, 1984. 304 с. [Zoltan Ya. Skin grafting. Budapest: Izdateľstvo akademii nauk Vengrii Akademiai ADO-BUDAPEST, 1984. 304 p. (In Russ.)].