

На правах рукописи

Галиченко

Галиченко Кристина Александровна

**Экспериментальное обоснование применения лазерных технологий
для закрытия дефектов мягких тканей**

3.1.9. Хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Блинова Екатерина Валериевна

Официальные оппоненты:

Бежин Александр Иванович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, заведующий кафедрой

Шароев Тимур Ахметович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел торакоабдоминальной хирургии, главный научный сотрудник

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «19» декабря 2025г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу 119435, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Zubovskiy bulvar, d.37/1) и на сайте: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « ___ » _____ 2025 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета ДСУ 208.001.28
доктор медицинских наук, профессор

Семиков Василий Иванович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Травмы, ассоциированные с повреждением мягких тканей, являются серьезным вызовом для медицины и обуславливают медико-социальную значимость, ежегодно унося жизни 4,4 миллиона человек по всему миру и обуславливая 8 % всех смертей. Методы закрытия ран эволюционировали: на сегодняшний день выбор врачей варьируется от хирургических швов до лазерных соединений.

Исторически сложилось так, что многие исследования использовали лазерные технологии для преодоления недостатков традиционных хирургических методов в медицине. Сегодня лазерные технологии стали неотъемлемой частью жизни современного человека (Галиченко К.А. и др, 2024; Mistry Y.A. et al., 2018). Спектр направлений медицинского использования уникальных свойств лазерного излучения крайне широкий и лишь увеличивается с каждым годом. В настоящее время с помощью лазерного воздействия рассекают мягкие ткани, коагулируют, герметизируют сосудистые трансплантаты. В пластической хирургии большое значение придают сведению краев раневого дефекта, особенно при лоскутной пластике. Способ соединения краев раны должен быть максимально прост, малотравматичен и обладать удовлетворительными клиническими и косметическими результатами.

При традиционном методе закрытия краев раны происходит повреждение сосудистой стенки иглой, внутрипросветные реакции на инородные тела, вызванные нерассасывающимся шовным материалом, нарушение целостности и функции эндотелия, гиперплазия интимы и, как следствие, стеноз (Rossi F. et al., 2005). В сопоставленных краях раны, соединенных шовным материалом, наблюдается более сильная и длительная воспалительная реакция, чем, например, при лазерном сваривании краев раны (Белоусов, А.Е., 1998; Нельга И.О. и др., 2014). В хирургической практике при лоскутной пластике имеется достаточно широкий спектр способов сведения краев раневого дефекта. Основным недостатком традиционных способов закрытия раневого дефекта с помощью хирургического шовного материала, кожных степлеров с одноразовыми скобами, биоклея на основе цианоакрилатов являются последующие рубцовые изменения на коже пациента. Лазерный шов привлекателен вследствие отказа от шовного материала или ограничения его использования.

Закрытие ран с помощью лазера – это современный бесшовный биофотонный метод хирургического восстановления целостности мягких тканей (Du, T. et al., 2021). Но из-за недостаточной разработки теоретических и клинических аспектов применения лазера для соединения тканей при выполнении оперативных вмешательств в настоящее время их успешная

трансляция в реальную клиническую практику невозможна. Открытым остается вопрос о глубине нарушений тканевой гемодинамики и жизнеспособности тканей в различных слоях и участках эпидермиса, дермы, подкожной жировой клетчатки, что обуславливает актуальность настоящего исследования. На фоне изобретения российскими учеными новой аппаратуры на основе диодного лазера и различные виды биоорганических составов, в последние годы в научном сообществе возрос интерес к перспективному методу лазерного воздействия на края раны во время хирургических операций, что также подчеркивает актуальность данного исследования.

Степень разработанности темы исследования

В научно-исследовательской лаборатории «Биомедицинские нанотехнологии» Института биомедицинских систем федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет «Московский институт электронной техники» под руководством д.т.н., доцента А.Ю. Герасименко был разработан аппарат на основе диодного лазера с обратной температурной связью, работающий при контакте с различными видами биологических составов (БС).

В России ранее было проведено исследование, где отражены положительные результаты в области соединения краев ран в челюстно-лицевой хирургии, в том числе на слизистых оболочках полостей лабораторных животных, с помощью разработанной лазерной технологии в лаборатории «Биомедицинские нанотехнологии» (Сорокина Е.А., 2025). Данное экспериментально-хирургическое исследование – первая апробация разработанного лазерного аппарата и БС в челюстно-лицевой хирургии; это первый шаг на пути к внедрению в клиническую практику.

Эффективность ранозаживления установлена при использовании 2% спрея содержащего наноцерий и N-ацетил-6-аминогексановую кислоту при лоскутной пластике по методу А.А. Лимберга к.м.н. А. В. Суховым. Было показано, что топическое использование спрея повышает прочность рубцового соединения (Сухов А.В., 2023).

В настоящее время в Сеченовском Университете (Москва) проходит апробация лазерной технологии для восстановления целостности кровеносных сосудов и полых органов.

Стоит отметить, что в России не проводилось исследований по изучению способа закрытия раны с применением лазерного излучения при лоскутной пластике. За рубежом подобные исследования не привели к значимым результатам, которые могли бы быть использованы в хирургической практике. Также не удалось обнаружить работ, в которых на большом экспериментальном материале были исследованы преимущества и недостатки

лазерных аппаратов и различных видов БС при лоскутной пластике. Все вышеизложенное явилось основанием для проведения настоящей работы.

Цель и задачи исследования

Провести сравнительную оценку эффективности соединения мягких тканей при лоскутной пластике с использованием различных видов биологических составов и лазерного воздействия в эксперименте.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. В остром эксперименте определить эффективность соединения мягких тканей при лоскутной пластике с применением лазерного воздействия с биологическими составами, содержащими и не содержащими коллаген.

2. В остром эксперименте изучить морфологические характеристики области соединения краев раневого дефекта при воздействии лазера и биологических составов.

3. В хроническом эксперименте определить косметический эффект соединения мягких тканей при лоскутной пластике с применением лазерного воздействия с биологическим составом, содержащим сывороточный альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), воду, а также оценить зрелость рубцового соединения.

4. Определить безопасность лазерного воздействия с использованием различных видов биологических составов при соединении мягких тканей раневого дефекта.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное исследование соединения краев кожной раны с применением лазерной установки с длиной волны 810 нм при нанесении биологических составов (БС) содержащих: БС-0 – сывороточный альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленого (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), вода; и БС-К содержащего сывороточный альбумин (25 масс.%), коллаген (8 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубок (0,1 масс.%), воду – при лоскутной пластике по методу А.А. Лимберга.

В остром эксперименте на лабораторных крысах линии Wistar доказано, что лазерное воздействие на края раны с использованием БС-0 незначительно уступает по прочности узловому хирургическому шву на 21-е сутки. Для экспериментальной группы БС-0 показатель прочности на разрыв достигал 0,055 МПа, в то время как в контрольной группе – 0,057 МПа. Во второй экспериментальной группе, где встречные лоскуты соединялись с помощью БС-К и лазерного воздействия, прочность соединения составила 0,046 МПа.

Установлено, что на основании полученных результатов острого эксперимента наиболее перспективным для соединения краев раны с использованием лазерного воздействия является БС-0 в остром эксперименте. При использовании БС-К, содержащего коллаген (8 масс.%) происходило формирование более толстого рубца по сравнению БС-0.

Продемонстрировано в сравнительном анализе, что применение инновационной технологии для соединения краев раны при лоскутной пластике с нанесением БС-0 влияет на различные фазы ранозаживления: уменьшается воспалительная реакция, ускоряется пролиферация и регенерация тканей с формированием нормотрофического рубцового соединения.

При изучении толщины формирующегося рубцового соединения на кожном покрове лабораторных животных на 14-е сутки показано, что наименьшая толщина рубца ($0,3 \pm 0,33$ мм) наблюдалась преимущественно в группе, где использовалась лазерное воздействие с БС-0, содержащего альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), воду.

На основании полученных результатов в остром эксперименте было показано, что при лоскутной пластике встречными лоскутами применение лазерного воздействия с БС-0 превосходило вторую экспериментальную группу с БС-К и группу контроля по срокам формирования первичного рубца ($8,1 \pm 0,7$ суток).

В работе установлено, что при динамической оценке постоперационного рубца по международной шкале Scar на 30-е, 60-е, 90-е сутки лазерное соединение с БС-0, приводит к формированию нормотрофической рубцовой ткани, превосходящей по косметическим характеристикам узловое соединение. Постоперационный рубец имел едва заметные контуры, эритема, телеангиэктазии, диспигментации, локальное воспаление зарегистрированы не были, в сравнении с группой контроля и с группой, где использовался БС-К.

Подтверждено, что в отдаленном постоперационном периоде в рубцовом соединении происходит образование коллагеновых волокон I типа, что в отдаленном послеоперационном периоде в рубцовом соединении происходит образование коллагеновых волокон I типа, что является доказательством надежности рубцового соединения.

На 90-е сутки эксперимента показано наличие выраженной иммуногистохимической реакции на коллаген I типа с использованием лазерного соединения и БС-0.

Отдельно следует подчеркнуть, что именно на 90-е сутки отмечается максимальная плотность кожной раны в микропрепаратах, где использовалось лазерное воздействие.

В результате экспериментально-хирургического исследования применения лазерной установки с длиной волны 810 нм и различных видов БС для соединения краев кожной раны

при лоскутной пластике установлено, что методика не изменяет показатели гемограммы и не влияет на биохимические показатели крови лабораторных животных на 21-е – 90-е сутки.

Разработана и научно обоснована методика использования лазерного излучения с $\lambda = 810$ нм в комплексе БС на края раневого дефекта при лоскутной пластике.

Теоретическая и практическая значимость работы

Описанные в работе результаты исследования характеризуются высоким потенциалом практического внедрения. В ходе экспериментов при формировании встречных лоскутов, показаны достоинства и недостатки нового метода соединения краев раны при воздействии лазерного пучка с длиной волны 810 нм; разработана методологическая база для последующих доклинических и клинических исследований в хирургии. Изучена и продемонстрирована прочность на разрыв в области рубцового соединения, визуализирован, оценен косметический эффект по международной шкале Scar и проведена морфологическая верификация кожного соединения.

Предложена экспериментальная модель по формированию кожного дефекта с последующим закрытием встречными лоскутами с нанесением БС для лазерного воздействия. При анализе результатов хирургического эксперимента идентифицированы статистически значимые факторы прогноза ранозаживления после лоскутной пластики, а также установлены значимые эстетические характеристики сформированного рубца после оперативного и лазерного вмешательства.

Полученные результаты свидетельствуют о безопасности применения лазерных технологий с различными видами БС для соединения краев раневого дефекта, могут использоваться в будущих научных исследованиях, направленных на совершенствование методик соединения дефектов сосудов, полых органов.

Методология и методы исследования

Методология представленной работы основана на мультидисциплинарном подходе, включающего методы экспериментальной хирургии, биофотоники, морфологии.

Эксперимент состоял из двух этапов: первый – острый эксперимент, второй – хронический эксперимент.

Кожный дефект моделировали в области холки животных с использованием перманентного маркера, с последующим иссечением. Для закрытия дефекта кожи формировали встречные лоскуты, которые соединяли с помощью узлового шва и при нанесении БС-0, БС-К с последующим лазерным воздействием.

Аппарат на основе диодного лазера и используемые различные виды БС для лазерного соединения краев мягких тканей были предоставлены научно-исследовательской лабораторией «Биомедицинские нанотехнологии» Института биомедицинских систем Национального исследовательского университета «МИЭТ». (Gerasimenko A.Y. et al., 2022).

БС-К состоял из альбумина (25 масс.%), индоцианина зеленого (0,1 масс.%), одностенных углеродных нанотрубок (0,1 масс.%), коллагена (8 масс.%), воды. БС-0 включал альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленого (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), воду.

В остром эксперименте на 7-е, 14-е, 21-е сутки после выведения лабораторных животных из эксперимента под ветеринарным наркозом оценивали: прочность соединения на разрыв с использованием динамометра Ugo Basile (Италия), время ранозаживления, толщину рубцового соединения, косметические характеристики по международной шкале Scar, а также проводили морфологические исследования с окраской препаратов гематоксилином и эозином. В хроническом эксперименте на 30-е, 60-е, 90-е сутки оценивали состояние постоперационного рубца по международной шкале Scar, а также проводили морфологическую окраску гематоксилином и эозином и иммуногистохимию на коллагеновые волокна I типа.

Анализ результатов исследования осуществлялся с использованием методов сравнительной и описательной статистики. Для проведения расчетов использовалась программа STATA v.17.0.

Положения, выносимые на защиту

1. Закрытие встречными лоскутами дефектов кожи с использованием лазерного излучения и биологических составов, содержащих сывороточный альбумин (25 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), с коллагеном и без него, приводит к формированию надежного соединения краев раны при лоскутной пластике к 21-м суткам, сокращает время формирования первичного рубца, незначительно уступающего по прочности узловому шву.

2. Использование биологического состава, включающего сывороточный альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), воду, при лазерном воздействии для соединения краев раны при лоскутной пластике в отдаленном послеоперационном периоде приводит к формированию зрелого рубцового соединения, содержащего коллагеновые волокна I типа, и превосходит по косметическим характеристикам узловый шов.

3. Применение биологических составов в комплексе с лазерным воздействием при закрытии кожных дефектов с использованием встречных лоскутов не влияет на общие и биохимические показатели крови и мочи.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.9. Хирургия, пункту 4. Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику; пункту 6. Экспериментальная и клиническая разработка современных высокотехнологичных методов хирургического лечения, в том числе эндоскопических и роботических.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается обширным и внутренне непротиворечивым массивом результатов исследований на лабораторных крысах линии Wistar, использованием в работе испытательного и аналитического оборудования, прошедшего процедуру государственной поверки. Смоделированный кожный дефект с последующим закрытием встречными лоскутами на фоне применения лазерного аппарата и различных видов БС соответствует международной практике доклинических исследований медицинских изделий.

Группы контроля и экспериментальные группы были сформированы из одного вида животных, доставленных из отдела питомника «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства. Их транспортировка, изоляция на карантин и содержание были регламентированы и контролировались в лаборатории кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ИКМ им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Соблюдены требования международных соглашений и подзаконных актов, регламентирующих использование лабораторных животных, в качестве объектов доклинических испытаний.

Исследование выполнено на достаточном количестве лабораторных животных, что позволяет получить репрезентативные результаты. Анализ результатов исследования соответствовал современному уровню развития статистической науки. В работе использованы непараметрические методы статистической обработки в соответствии с характеристиками вариационных рядов изучаемых показателей.

Базу данных исследования формировали с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel, где же выполняли обработку результатов. Статистический анализ экспериментальных данных осуществлялся в программной среде STATA v.17.0.

Результаты экспериментально-хирургического исследования защищались автором на научно-практических конференциях с международным участием: 24-й Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке» (17.12.2022, Москва); 25-й Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке» (16.12.2023, Москва); 26-й Международный конгресс «Здоровье и образование в XXI веке» (23.12.2024, Москва).

Апробация диссертационного исследования проходила на заседании кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), протокол № 6 от 5 июня 2025 года.

Исследования, результаты которых стали основой диссертации, выполнялись в рамках крупного научного проекта при финансовой поддержке Минобрнауки России по соглашению № 075-15-2024-555 от 25.04.2024 «Микроэлектронные технологии формирования мультимасштабных имплантируемых нейроинтерфейсов живых-технических систем для управления передачей болевых сигналов в мозг» и государственного задания (проект FSMR-2024-0003) «Биоинтегрированная электроника на основе углеродных нанотрубок и графена» Национального исследовательского университета «МИЭТ».

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования учтены при актуализации учебных планов кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Личный вклад автора

До реализации экспериментальной части исследования автор проанализировал источники зарубежной и отечественной литературы по использованию лазерных технологий, применяемых в настоящее время в клинической практике. На основании научной гипотезы, сформулированы автором, были поставлены цели и задачи исследования. Автором лично проведены все экспериментально-хирургические процедуры, выполнен мониторинг и оценка ранозаживления, фото- и видео фиксация объектов исследования. Создана база данных экспериментального исследования, проведена статистическая обработка полученных результатов. Автор включено принимал участие в морфологических методах исследования,

участвовал в апробации полученных результатов на конференциях различного уровня. Автор лично подготовил научные статьи, рукопись диссертации, автореферат.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования опубликовано 6 работ, из которых 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского университета / Перечень ВАК Минобрнауки России, в которых должны публиковаться основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 – материал конференций по теме диссертационного исследования.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 118 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы по теме исследования, главу с описанием материалов и методов исследования, главы с результатами исследований, обсуждение и заключение по результатам исследования. Работа иллюстрирована 39 рисунками и 11 таблицами. Список литературы содержит выходные данные 129 работ, из которых 21 работа отечественных и 108 – зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В экспериментально-хирургическом исследовании использовались 72 лабораторные крысы (самцы) линии Wistar с массой тела 200–250 г, разделенные на 6 групп по 9 особей в каждой, которым моделировался кожный дефект с последующим закрытием встречными лоскутами мягких тканей с использованием шовного материала и лазерного излучения с разными БС.

Исследования выполнены на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Экспериментальное исследование одобрено в локальном этическом комитете ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет, г. Москва), протокол заседания № 15-24 от 06.06.2024.

Устройство для лазерного соединения краев раны на основе диодного лазера, используемое в работе, было предоставлено научно-исследовательской лабораторией «Биомедицинские нанотехнологии» Института биомедицинских систем Национального

исследовательского университета «МИЭТ». Формирование лазерного соединения осуществлялось в условиях непрерывного воздействия лазера, при мощности излучения до 4 Вт и постоянной длине волны – 810 нм. В процессе соединения тканей (Рисунок 1). Локальный нагрев области соединения контролировался пропорционально-интегрально-дифференциальным регулятором по сигналу с матричного инфракрасного датчика, что обеспечивало контроль температуры на соединяемых поверхностях раны.

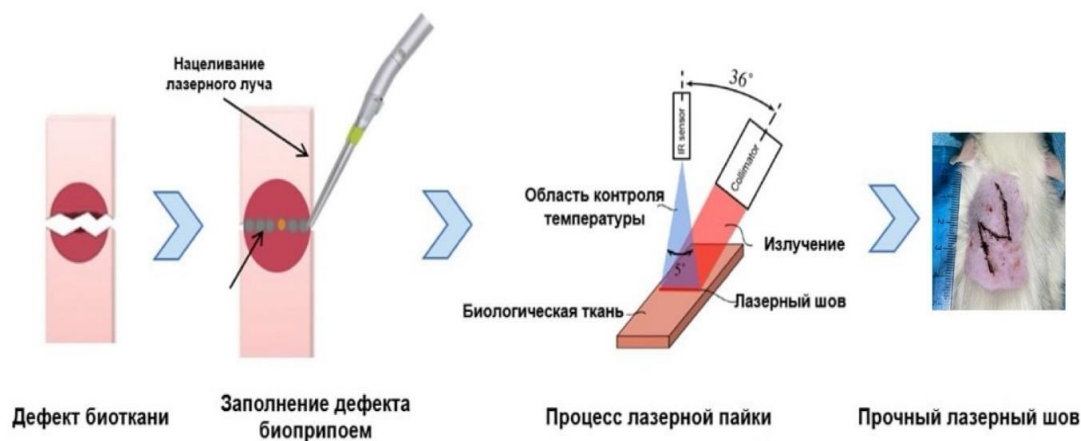


Рисунок 1 – Схематичное изображение процесса лазерного соединения мягких тканей

В биологические составы входил индоцианин зеленый, который способен повышать оптическую плотность и поглощать тепловую энергию для обеспечения температурно-активируемой адгезии.

В соответствии с задачами диссертационного исследования использован метод закрытия кожного дефекта мягких тканей встречными лоскутами по А.А. Лимбергу с использованием БС и лазерного воздействия в сравнении с узловым швом.

После удаления волосяного покрова на холке животных и обработки операционного поля 70% раствором этилового спирта (Рисунок 2 А) перманентным маркером наносили на кожу предполагаемый кожный дефект размером 1,5 см × 0,3 мм (Рисунок 2 Б), с последующим иссечением (Рисунок 2 В). Далее формировали встречные лоскуты с использованием техники А.А. Лимберга (Рисунок 2 Г). Лоскут приподнимали у края тонким анатомическим пинцетом для диссекции и отслаивали лоскут от поверхностной фасции (Рисунок 2 Д). Далее проводили обмен встречных лоскутов на новом для них положении (Рисунок 2 Е). В группе контроля, края ран соединялись узловыми швами Пролен 6/0 (Ethicon, Johnson & Johnson, США) с промежутком 5 мм. Швы снимались на 7-е сутки (Рисунок 2 Ж). В экспериментальной группе после сопоставления углов встречных лоскутов были наложены временные адаптационные узловые швы перед выполнением лазерного воздействия с БС (Рисунок 2 З). Далее

инъекционной иглой размером 18 G × 1 1/2 (длина иглы 300 мм) на новом положении встречных лоскутов наносили на их края разные виды БС и облучали лазерным пучком (Рисунок 2 И). Время воздействия составляло менее 60 секунд на точку с интервалом 2 мм.

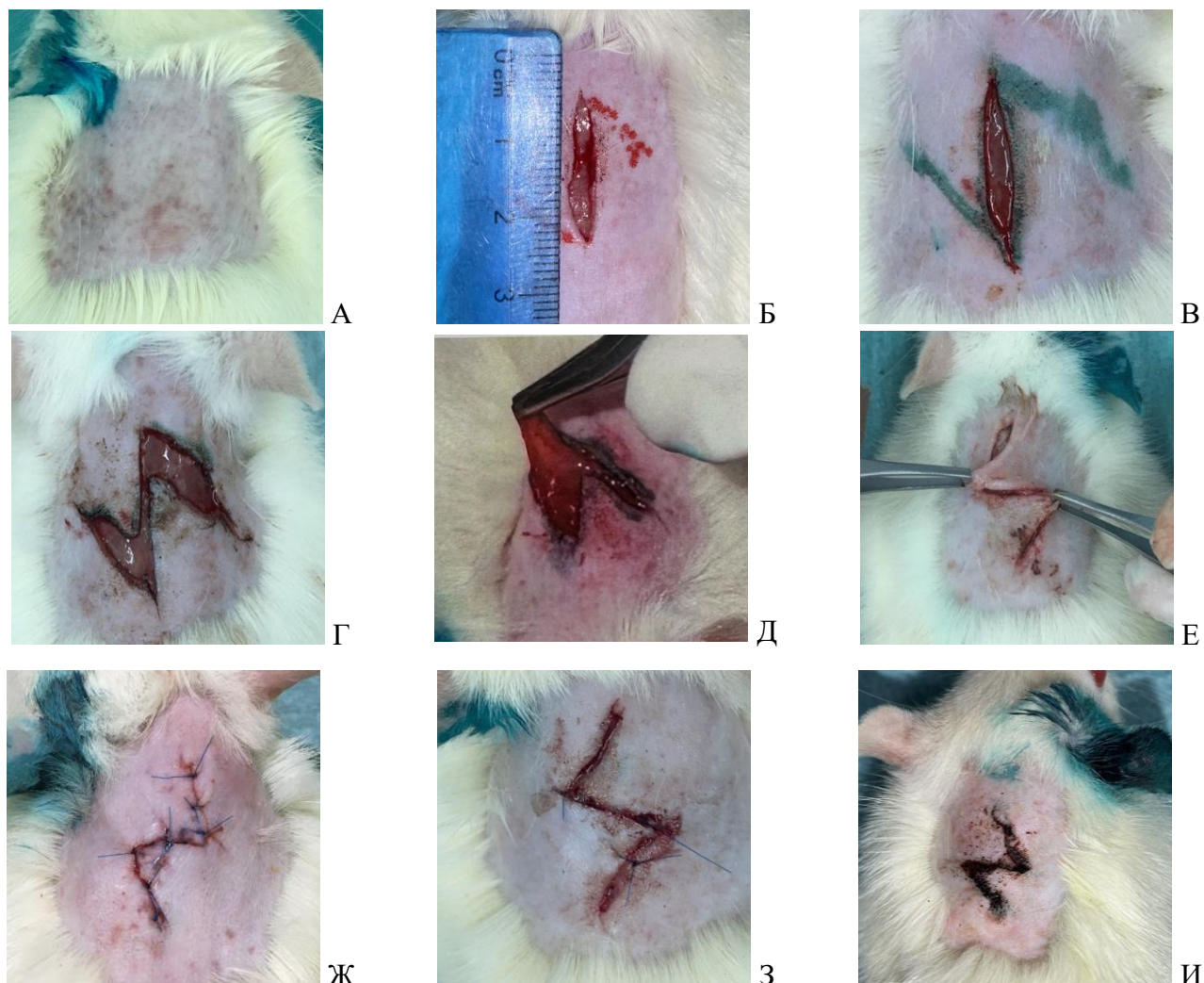


Рисунок 2 – Этапы выполнения операции в экспериментальном исследовании

Ежедневно выполнялась визуальная оценка ранозаживления операционной раны с использованием фотокамеры iPhone 15 Pro (Apple Inc., США).

Согласно плану эксперимента на 7-е, 14-е, 21-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки в каждой экспериментальной группе животных выводили по 4 особи случайным образом под ингаляционным наркозом изофлуран с использованием специализированной камеры CO₂. Для определения прочности сформированного кожного соединения на разрыв на 7-е, 14-е, 21-е сутки использовали динамометрическую систему на базе аппарата динамометра Ugo Basile (Италия). Косметические характеристики соединения краев раны определяли на 21-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки в соответствии с международной шкалой Scar в ходе изучения стандартизированных фотографических изображений постоперационной области (Таблица 1).

Таблица 1 – Критерии оценки рубцов после пластики встречными лоскутами по международной шкале Scar

Параметр	№	Оценочный показатель	Баллы
Экспансия рубцового соединения	1	Отсутствует/едва заметный	0
	3	Посредственная экспансия, приметное при детальном осмотре	2
	4	Умеренная, очевидная экспансия	2
	5	Критическая экспансия	4
Эритема	1	Не имеется	0
	2	Наличие светло-розовой окраски, могут наблюдаться единичные телеангиэктазии	1
	3	Наличие красной окраски, может наблюдаться большое количество телеангиэктазий	2
	4	Наличие фиолетовой или темно-красной окраски	3
Диспигментация	1	Не имеется	0
	2	Имеется	1
Стигмы шовного материала/Лазерного соединения	1	Отсутствуют	0
	2	Присутствуют	1
Гипертрофия/Атрофия	1	Незначительная: ощутимая при пальпации, слабо различимая гипертрофия или атрофия	1
	2	Ослабленная: явно заметная гипертрофия или атрофия	2
	3	Критическая: значительная гипертрофия или атрофия или патологическая экспансия грубой волокнистой соединительной ткани	3

В ходе аутопсии лабораторных животных производился забор комплекса кожного дефекта до фасциального слоя. Подкожные фасции отделяли тупоконечными ножницами по уровню кожного разреза. Фиксация забранного материала проводилась путем погружения в 10% раствор нейтрального забуференного формалина HistoSafe («Эргопродакшн», Россия).

Полученные фрагменты подвергались обработке в автомате гистологической проводки тканей карусельного типа STP-120 (Thermo-Fisher Scientific, США). Парафинизированные блоки выдерживались в отдельной комнате на протяжении 48 часов, затем использовались для получения гистологических срезов. Микропрепараты толщиной 3–4 мкм, включающие все слои кожной раны, изготавливали на ротационном моторизованном полуавтоматическом микротоме HM340E (Microm Laborgeräte GmbH, Германия).

Окрашивание срезов гематоксилином и эозином проводили с помощью автоматизированного гистостейнера HistosafeInfiltra («Некстэлидженс», Россия). Гистологические срезы на предметных стеклах (Citotest, Китай) заключали монтирующей средой «Витрогель» («Биовитрум», Россия) под покровные стекла (Citotest, Китай).

Гистологические микропрепараты изучали в световом микроскоп OLYMPUS-CX31 (Olympus, Япония), снабженный цифровой фотокамерой. Далее изображения обрабатывали в программе QuPath (США).

Состояния волокнистого компонента соединительной ткани определяли методом иммуногистохимией с использованием термозависимого ретривера эпитопов и первичных антител к коллагену I типа (clone ab138492; 1:400; Abcam, США). Микропрепараты окрашивались на коллаген I типа в коричневый цвет различной интенсивности (от светло-коричневого до темно-коричневого). Подсчет экспрессии коллагена I типа на гистологических препаратах проводили при увеличении $\times 200$ с использованием микроскопа с цифровым выходом и программного обеспечения Leica Application Suite (LAS) Version 4.9.0 в сочетании с программой ImageJ. Данные в картах индексирования (конвертация JPG в проценты или пиксели; трансформация изображения из цветного 24-битного режима RGB в режим 256 gray scale) в совокупности с размерами площади и оптической плотности (интенсивности окрашивания) переводили в относительные условные единицы (баллы), где «-» – отсутствие; «+» – слабая экспрессия (0–0,3 Pх; 1 балл); «++» – умеренная (0,3–0,6 Pх; 2 балла); «+++» – выраженная (>0,6 Pх; 3 балла).

В ходе экспериментально-хирургического острого эксперимента проводили контроль и мониторинг клинично-лабораторного состояния животных. Проводили общий и биохимический анализ крови на автоматическом анализаторе – ветеринарном гематологическом анализаторе 3-diff с открытой системой Mindray BC-2800 Vet (Китай), а также на экспресс-анализаторе Dri Chem NX500 i (Fujifilm, Япония) с использованием специализированных реагентов в сыворотке крови без признаков гемолиза. Для сбора мочи крыс помещали в специальные метаболические клетки на 5 часов. В нижний отсек клетки помещали стеклянную колбу, куда собирали мочу. Для анализа использовали тест-полоски Uriscan.

Анализ результатов исследования осуществлялся с использованием методов сравнительной и описательной статистики. Для проведения расчетов использовалась программа STATA v.17.0.

Результаты исследования

Результаты экспериментально-хирургического исследования эффективности лазерного соединения с различными видами биологических составов в восстановлении кожного дефекта лабораторной крысы при лоскутной пластике в остром эксперименте.

В контрольной группе животных время формирования незрелого рубца составило $14 \pm 1,2$ суток. При использовании лазерного воздействия и БС-К - $11,1 \pm 0,7$ суток, БС-0 – $8,1 \pm 0,7$ суток (Рисунок 3).

При определении толщины сформировавшегося рубца на 14-е сутки установлено, что в контрольной группе она составила $0,9 \pm 0,8$ мм. В отличие от группы контроля, в экспериментальной группе с БС-К, значение составляло $0,7 \pm 0,33$ мм. Тогда как в экспериментальной группе с БС-0, толщина рубца составила $0,3 \pm 0,33$ мм.

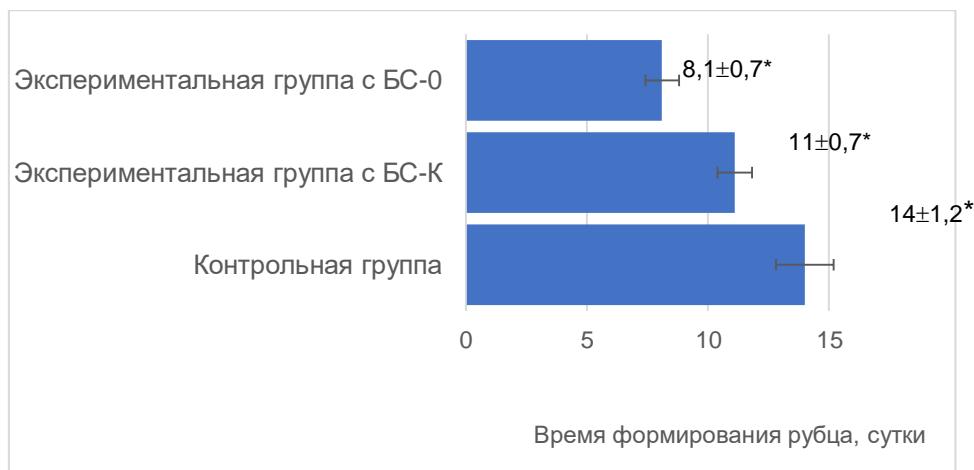


Рисунок 3 – Время формирования рубца в остром эксперименте при пластике встречными лоскутами на фоне лазерного воздействия и различными видами БС: * $p < 0,05$ достоверность различий при сравнении с контролем (одномерный дисперсионный анализ, критерий Манна-Уитни)

При определении прочности сформированного кожного соединения на 7-е сутки в группе контроля данный показатель составил – 0,013 МПа. В экспериментальной группе животных (БС-К) значение показателя прочности на разрыв увеличивалось до 0,018 МПа ($p = 0,001$ при сравнении с группой контроля животных). В экспериментальной группе животных (БС-0) прочность на разрыв составляла 0,019 МПа. На 14-е сутки сила на разрыв при лазерном соединении незначительно уступала традиционному шву. В группе контроля значение показателя составила 0,026 МПа (Рисунок 4).

В экспериментальной группе животных (БС-К) показатель составил 0,02 МПа. В группе животных, у которых раны соединялись с помощью БС-0, прочность на разрыв составила 0,023 МПа. На 21-е сутки наблюдался одновременный рост прочности соединения во всех группах, связанный с естественными процессами ранозаживления. В контрольной группе прочность на разрыв составила 0,057 МПа. В экспериментальной группе животных (БС-К) данный показатель равен 0,046 МПа. В экспериментальной группе животных, у которых встречные лоскуты соединялись с помощью БС-0 и включавшего лазерное воздействие, прочность на разрыв составила 0,055 МПа.

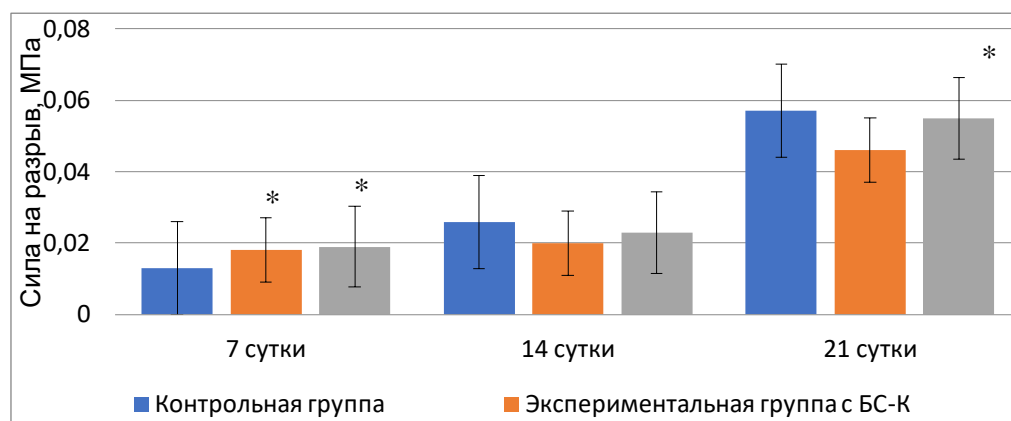


Рисунок 4 – Результаты определения прочности рубцового соединения на 7, 14, 21 сутки: * $p < 0,05$ достоверность различий при сравнении с контролем (одномерный дисперсионный анализ, ANOVA, критерий Тьюки)

Результаты косметических характеристик послеоперационного рубца представлены на Рисунке 5. Контрольная группа: 7 сутки – края раны гиперемированы и утолщены, незначительный прозрачный экссудат без запаха, в области вершины встречного лоскута диастаз краев раны 1–2 мм, на протяжении рубцового соединения струп темно-коричневого цвета, чрезмерное натяжение тканей. 14 сутки – Дефект: протяженный, втянутый, западающий, вдавленный, багрово-красного цвета. В области снятых швов телеангиоэктазии и неровная поверхность рубца. Очерченность выражена. Консистенция плотная. Нет роста единичных волосяных фолликулов. Форма рубцового соединения без изменений. Нет фибриновой корки. Есть следы от шовного материала. 21 сутки – признаков воспаления нет, рубец четко выражен, поверхность гладкая. Плотность ткани умеренная. Рубцовое соединение с выраженной очерченностью и плотной консистенцией, следы от шовного материала визуализируются. Незрелый рубец с неровной поверхностью.

Группа с применением лазерных технологий и БС-0: 7 сутки – струп тонкий, нет признаков присоединения инфекции и расхождения лазерных швов. Линейность кожного соединения. Рост единичных волосяных фолликулов в зоне рубца и окружающих тканей. 50% площади раны покрыта зеленым струпом, 50% освобождается от фибриновой корки. 14 сутки – рубцовое соединение с гладкой поверхностью, нормотрофической формы. Волосяные фолликулы в зоне соединения рубца, нет телеангиэктазий. Нет фибриновой корки. Очерченность выражена. Консистенция мягкая. 21 сутки – признаков воспаления нет, многочисленные волосяные фолликулы. Форма рубца нормотрофическая. Очаговых уплотнений нет. Очерченность выражена. Консистенция мягкая. Подкожный зеленый пигмент. Группа с применением лазерных технологий и БС-К: 7 сутки – утолщенный зеленый струп на все протяжении раны (краситель индоцианин зеленый). Без видимых изменений окружающих тканей. Гладкая, блестящая, гиперемированная поверхность, без струпа. 14 сутки – рубцовое

соединение светло-розовое, западающей формы с эритематозными изменениями в месте временных хирургических адапционных швов. Нет фибриновой корки. Очерченность выражена. Консистенция мягкая. На разных участках рубцового соединения визуализировался подкожный пигмент. 21 сутки – Рубцовых деформаций, следов эритемы, очаговых уплотнений нет. Консистенция мягкая. Подкожный зеленый пигмент (краситель).



Рисунок 5 – Макроморфологическая характеристика ран при пластике встречными лоскутами с использованием различных видов БС на фоне применения лазерного излучения и использование хирургического шовного материала у контрольной группы на разные сроки

При оценке косметических характеристик рубца на 21-е сутки в экспериментальной группе с БС-0 и включавшим лазерное воздействие сумма составила 3 балла, для узлового соединения при лоскутной пластике встречными лоскутами результат был 8 баллов, при лазерном соединении в экспериментальной группе животных с БС-К показатель был 6 баллов (Рисунок 6).

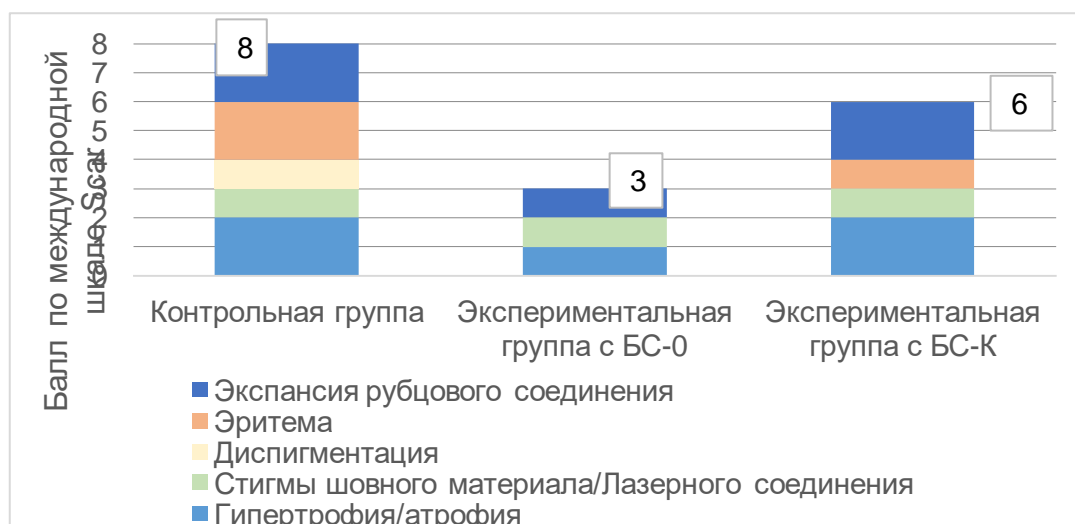


Рисунок 6 – Критерии оценки рубцов после пластики встречными лоскутами на 21-е сутки по международной шкале Scar

Таким образом, на основании полученных результатов острого эксперимента наиболее перспективным для соединения краев раны с использованием лазерного воздействия является БС-0. В связи с этим на следующем этапе в хроническом эксперименте было принято решение использовать БС-0.

Результаты экспериментально-хирургического исследования эффективности лазерного соединения с бесколлагеновым биологическим составом в восстановлении кожного дефекта лабораторной крысы при лоскутной пластике в хроническом эксперименте.

Результаты косметического эффекта показаны на Рисунке 7.

Контрольная группа: 30 сутки – незрелое бледно-розовое рубцовое соединение с неровной поверхностью и выраженными отчетливыми контурами, рубец вдавлен на всем протяжении в подлежащие ткани. Следы и гиперемированные участки от хирургического шовного материала. Заметны нарушения макрорельефа. Умеренно плотная консистенция. Окружающие ткани не подверглись изменениям, но ткани, затронутые хирургическим вмешательством, сохраняли признаки чрезмерного натяжения. 60 сутки – бледно-розовый умеренно зрелый протяженный рубец. Рубец атрофичный, с более западающим рельефом, неправильной формы, с неровной и бугристой поверхностью. Вдавlenia в подлежащие ткани, выраженная очерченность. Упругая консистенция. 90 сутки – рубец визуализируется, умеренно зрелый, бледной окраски, с гладкой поверхностью и умеренной плотности ткани. Рубец нормотрофический. Заметный рельеф. Поверхность рубцового соединения в пределах кожи, неровная. Очерченность, заметна только при детальном рассмотрении, слабо выражена. Мягкая консистенция. Внешние патологические характеристики и свойства, характерные для умеренно зрелого рубца, не имели признаков динамического преобразования.

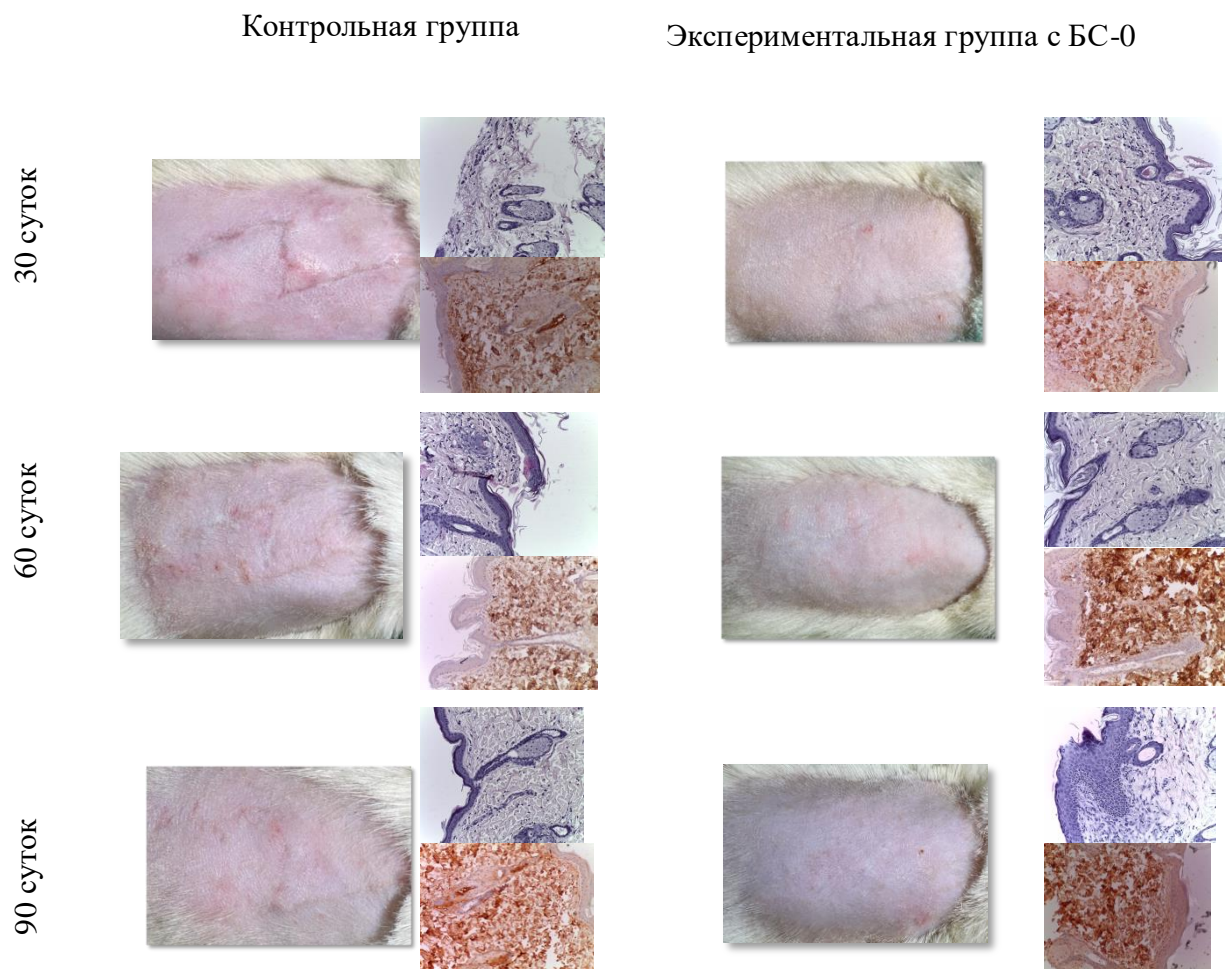


Рисунок 7 – Макро- и морфологическая характеристика закрытия дефекта при лоскутной пластике встречными лоскутами с использованием БС-0 на фоне применения лазерного излучения у экспериментальной группы и использование хирургического шовного материала у контрольной группы на разные сроки (Галиченко К.А. и др., 2025)

Контрольная группа: 30 сутки – незрелое бледно-розовое рубцовое соединение с неровной поверхностью и выраженными отчетливыми контурами, рубец вдавлен на всем протяжении в подлежащие ткани. Следы и гиперемизированные участки от хирургического шовного материала. Заметны нарушения макрорельефа. Умеренно плотная консистенция. Окружающие ткани не подверглись изменениям, но ткани, затронутые хирургическим вмешательством, сохраняли признаки чрезмерного натяжения. 60 сутки – бледно-розовый умеренно зрелый протяженный рубец. Рубец атрофичный, с более западающим рельефом, неправильной формы, с неровной и бугристой поверхностью. Вдавления в подлежащие ткани, выраженная очерченность. Упругая консистенция. 90 сутки – рубец визуализируется, умеренно зрелый, бледной окраски, с гладкой поверхностью и умеренной плотности ткани. Рубец нормотрофический. Заметный рельеф. Поверхность рубцового соединения в пределах кожи, неровная. Очерченность, заметна только при детальном рассмотрении, слабо выражена. Мягкая

консистенция. Внешние патологические характеристики и свойства, характерные для умеренно зрелого рубца, не имели признаков динамического преобразования.

Группа лазерного излучения с БС-0: 30 сутки – светлая, гладкая зона рубцового соединения с ровной поверхностью. Признаков гиперемии и присоединения инфекции нет. Нет вдавления незрелого рубца в подлежащие ткани, менее плотная консистенция, очерченность менее выраженная. Признаков экспансии за рамки поврежденного кожного покрова нет. Рубец нормотрофический, линейный. Рубцовых тяжей и массивов нет. Признаки патологического роста отсутствовали. Состояние окружающих тканей не изменено. 60 сутки – края раны почти не визуализируются, рубец в пределах кожного покрова, умеренно зрелый, с гладкой поверхностью и нормотрофической формы. Правильная линейная конфигурация. Очерченность менее выраженной, при детальном осмотре — слабо заметна. Упругая консистенция. 90 сутки – следы рубцовой ткани менее заметны, пальпаторно определяемых очагов уплотнения не было. Многочисленные волосяные фолликулы в области лазерного шва. Подкожный зеленый пигмент отсутствовал. Динамическое преобразование внешних патологических характеристик и свойств умеренно зрелого рубца также не наблюдалось.

По международной шкале Scar, приведенной для интегральной оценки косметических характеристик рубцового соединения на 30-е сутки в группе с узловым соединением результат составил 7 баллов, а при лазерном соединении в экспериментальной группе животных с БС-0 — 2 балла. На 60-е сутки суммарный балл для группы контроля составил 4 балла. В экспериментальной группе животных с БС-0 — 1 балл. На 90-е сутки суммарный балл для группы контроля при лоскутной пластике встречными лоскутами составил 2 балла. В экспериментальной группе при лазерном соединении с БС-0 — 1 балл (Рисунок 8).

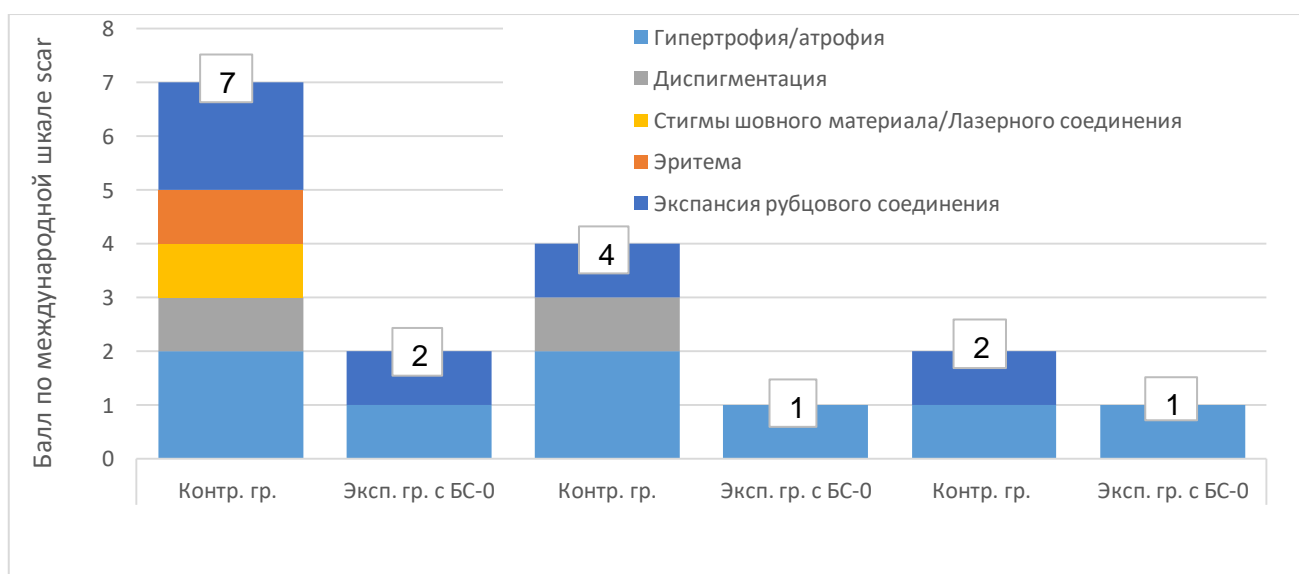


Рисунок 8 – Оценка состояния рубцовой ткани на 30-е, 60-е, 90-е сутки по международной шкале Scar

При иммуногистохимическом исследовании кожной раны на коллаген I типа обнаружены позитивные реакции, степень интенсивности которых отличалась в зависимости от условий, группы и сроков. Обращает на себя внимание статистически значимая разница в степени иммунной экспрессии Coll. I и его распределения в структурах кожного лоскута. В экспериментальной группе, где применялось лазерное воздействие и БС-0, на 30-е сутки статистически достоверно ($p < 0,05$) отмечалась «+» иммунопозитивная реакция на Coll. I. Аналогичная картина наблюдалась на этом сроке и в группе контроля, но она, как указано выше, демонстрировала меньшую плотность. На 60-е сутки отчетливо и статистически достоверно ($p < 0,05$) прослеживалось опережение интенсивности и плотности иммунопозитивной реакции Coll. I в экспериментальной группе практически в два раза, что соответствовало «++». В группе контроля реакция была умеренной («+»). Наиболее выраженный процесс коллагенообразования наблюдался на 90-е сутки в рамках экспериментальной группы. Его достоверность статистически подтверждена ($p < 0,05$). Данный показатель соответствует сильной иммуногистохимической реакции («+++»). В то же время на этом сроке в группе контроля данная реакция уступала и составляла 2 балла («++»). Отдельно следует подчеркнуть, что именно на 90-е сутки отмечалась максимальная плотность кожной раны в микропрепаратах экспериментальной группы (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты иммуногистохимического исследования волокнистого компонента кожной раны изучаемых групп на Coll. I

Маркеры	30 сутки	60 сутки	90 сутки
Контрольная группа	+	+	++
Экспериментальная группа с БС-0	+	++	+++

Также был проведен анализ гематологические и биохимические показатели крови и мочи на 21-е и 90-е сутки. За время наблюдения воспалительных и интоксикационных изменений крови не регистрировали. В крови отслеживались следующие показатели: лейкоциты, лимфоциты, MID (эозинофилы, моноциты), гранулоциты, эритроциты, гемоглобин, тромбоциты; АЛТ, АСТ, ЛДГ, креатинкиназа, билирубин общий, щелочная фосфатаза, креатинин, мочевины, общий белок, альбумин, глобулины, альбумин – глобулиновый коэффициент, холестерин общий, общие липиды, глюкоза, калий. В моче: диурез за 4 часа, кровь, билирубин, уробилиноген, кетон, белок, нитриты, глюкоза, рН, относительная плотность, лейкоциты, в 1 мкл, аскорбиновая кислота. Все показатели были в пределах нормальных референсных значений, разница между данными разных групп незначительна и обусловлена физиологической погрешностью.

ВЫВОДЫ

1. Закрытие дефектов кожи встречными лоскутами с использованием лазерного излучения и биологических составов приводит к формированию надежного соединения краев раны к 21-м суткам, сокращает сроки образования первичного рубца до 21-х суток и по прочности не уступает узловому шву.

2. В остром эксперименте закрытие встречными лоскутами дефектов кожи с использованием лазерного излучения с БС, содержащим сывороточный альбумин (25 масс.%), коллаген (8 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), воду, уступает БС, содержащим сывороточный альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), воду. Это проявляется в более длительном времени заживления формирующейся рубцовой ткани – $8,1 \pm 0,7$ суток, худших косметических характеристиках послеоперационного рубца (3 балла по международной шкале Scar) и меньшей прочности рубцового соединения – 0,055 МПа.

3. В хроническом эксперименте использование лазерного излучения с БС, содержащим сывороточный альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%) и воду, превосходило группу контроля. Это сопровождалось оптимальными косметическими характеристиками: рубцовая ткань была слабо заметна, отсутствовали эритема, телеангиэктазии, диспигментации, стигмы хирургического вмешательства и признаки локального воспаления. Рубец имел нормотрофическую конфигурацию, умеренную степень зрелости и располагался под волосяным покровом. Динамическая оценка по международной шкале Scar также подтверждала оптимальные косметические результаты.

4. Применение лазерного воздействия с БС, содержащим сывороточный альбумин (25 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные нанотрубки (0,1 масс.%), воду, приводило к повышению прочности и меньшей толщины сформированного рубцового соединения.

5. Использование лазерного воздействия с различными видами БС не сопровождается системными воспалительными реакциями.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Диссертационные исследования ранозаживляющего действия после оптимального сведения краев раны при лоскутной пластике с применением лазерных технологий и БС могут быть продолжены и реализованы в рамках последующих исследований в клинической практике врача-хирурга.

2. Новый метод лазерного излучения с БС, содержащим сывороточный альбумин (25 масс.%), коллаген (8 масс.%), индоцианин зеленый (0,1 масс.%), одностенные углеродные

нанотрубки (0,1 масс.%) и воду, может быть использован для сведения краев раневого дефекта, при лоскутной пластике в хирургии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Изучение эффективности лазерного соединения с биологическим составом в восстановлении кожного дефекта при лоскутной пластике / **К. А. Галиченко**, У. А. Покидько, С. В. Цветков [и др.] // **Хирург** – 2025. – Т. 7, № 6. – С. 52–60.
2. Изучение эффективности лазерного соединения в комплексе с биологическими составами для восстановления кожного дефекта в лоскутной пластике в остром эксперименте / **К. А. Галиченко**, У. А. Покидько, С. П. Тимошкин [и др.] // **Медико-фармацевтический журнал «Пульс»**. – 2025. – Т. 27, № 4. – С. 42–47.
3. Сравнительная оценка эффективности соединения тканей при лоскутной пластике с применением лазера (Экспериментальное исследование) / **К.А. Галиченко**, Д.И. Рябкин, В.В. Сучкова [и др.] // **Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал)**. – 2024. – Т. 8, № 2. – С. 5–11.
4. Изучение процессов заживления послеоперационной раны при Z-образной пластике кожи в эксперименте на фоне применения церийсодержащего соединения N-ацетил-6-аминогексановой кислоты / **К.А. Галиченко**, Е.В. Блинова, Е.А. Симакина [и др.] // **Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал)**. – 2022. – Т. 6, № 3. – С. 5–11.
5. Влияние топического применения наночастиц оксида церия на регенерацию тканей в эксперименте / **К.А. Галиченко**, А. В. Сухов, С. П. Тимошкин [и др.] // **Медико-фармацевтический журнал «Пульс»**. – 2023. – Т. 25, № 5. – С. 96–100.
6. Материалы конференций по теме диссертационного исследования: Изучение ранозаживляющей активности церий-содержащего соединения N-ацетил-6-аминогексановой кислоты при сахарном диабете 2 типа / Е.В. Блинова, А.В. Сухов, И.Н. Сорокваша, Д.Н. Шимановский, **К.А. Галиченко**, С.Я. Скачилова, // **Кардиоваскулярная терапия и профилактика**. – 2022. – Т. 21, № S2. – С. 75–76.

Автор выражает глубокую и искреннюю благодарность доктору технических наук, профессору Института биомедицинских систем, начальнику научно-исследовательской лаборатории «Биомедицинские нанотехнологии» Герасименко Александру Юрьевичу, а также научному сотруднику Сучковой Виктории Викторовне за всестороннюю поддержку при подготовке данной работы.