

*На правах рукописи*

**Чурсинова Юлия Владимировна**

**«ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫЕ РУБЦЫ КОЖИ:  
РОЛЬ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ И ГИПОКСИИ»  
(клинико - экспериментальное исследование)**

14.01.17 - хирургия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва, 2020 г.

Работа выполнена в государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент **Зулькарнаев Алексей Батыргараевич**

**Научный консультант:**

кандидат медицинских наук, доцент **Куликов Дмитрий Александрович**

**Официальные оппоненты:**

**Дуванский Владимир Анатольевич** – доктор медицинских наук, профессор; руководитель отделения эндоскопии и эндоскопической хирургии ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства».

**Грачев Николай Сергеевич** - доктор медицинских наук, доцент; заведующий кафедрой хирургии с курсом онкологии и реконструктивно-пластической хирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, институт онкологии, радиологии и ядерной медицины.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «\_\_\_» февраля 2020 года в 12-00 на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.052.02, созданного на базе ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского по адресу: 105203 г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института усовершенствования врачей ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России по адресу: 105203 г. Москва, ул. Нижняя Первомайская, д. 65 и на сайте [www.pirogov-center.ru](http://www.pirogov-center.ru).

Автореферат разослан: «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь объединенного диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Матвеев Сергей Анатольевич

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Системный и органнй фиброз в совокупности представляют собой одну из серьезных медицинских проблем, затрагивая значительную долю населения земного шара [P.J. Wermuth и др., 2015]. До 45% всех случаев смерти в развитых странах мира связано с фиброзом органов [S. Amini-Nik и др., 2018]. Патологические рубцы представляют собой не просто итог регенерации раны, а являются фибропролиферативными заболеваниями кожи, механизмы развития и регуляции которых подчинены общим законам фиброгенеза. Длительная и чрезмерная воспалительная реакция на любом из этапов заживления раны приводит к увеличению количества и активности фибробластов, деятельность которых, особенно в условиях гипоксии, завершается чрезмерным накоплением экстрацеллюлярного матрикса и формированием патологических рубцов [P. Wang и др., 2016; Черняков А.В., 2017]. Каждый год в развитых странах мира приблизительно 100 миллионов человек страдают от проблем, связанных с рубцами, а частота послеоперационных патологических рубцов составляет от 39 до 68 % среди прооперированных пациентов. Патологические рубцы могут приводить не только к косметическим проблемам, но и вызывать функциональные изменения, такие как контрактуры и различные симптомы у пациентов, включая зуд и боль. Все это драматически влияет на качество жизни пациентов, их физическое состояние и психологическое здоровье [R.S. Chiang и др., 2016]. Известно, что обоснованный выбор метода лечения формирующихся гипертрофических и келоидных рубцов должен опираться на понимание преобладающего в нем патологического процесса, а результат лечения будет зависеть от адекватности и своевременности этого воздействия [R. Ogawa и др., 2017]. Тем не менее большинство методик, дающих возможность это сделать, инвазивны, а неинвазивные способы диагностики обладают недостаточной информативностью и не нашли широкого применения в связи с отсутствием четких критериев.

Одним из наиболее перспективных подходов для решения этой проблемы представляется оптическая диагностика, позволяющая быстро получить количественную информацию о состоянии тканей. Эта технология отличается безопасностью, неинвазивностью и информативностью, а также имеет невысокую себестоимость. Комплексное применение разных оптических способов диагностики может дать информацию не только о структурной, но и о функциональной характеристике тканей, что достигается путем количественного анализа таких параметров, как кровоток, уровень оксигенации, измерение флуоресценции белков соединительной ткани и порфиринов.

Возможность использования оптических методов диагностики в хирургии остается сложной научной проблемой. До настоящего времени практически не разработаны методы анализа и обработки результатов диагностики, дающие необходимую значимую именно медико-биологическую, а не физико-техническую информацию. В настоящее время в мире отсутствуют фундаментальные исследования, позволяющие на экспериментальных моделях оценить возможности комплексного применения оптических методов диагностики для инструментального измерения процессов воспаления, гипоксии и фиброза.

Одним из таких перспективных методов является флуоресцентная спектрометрия и оптическая тканевая оксиметрия. Тем не менее возможность их применения в клинической практике ограничена отсутствием диагностических критериев [D.W. Paul и др., 2015]. С учётом последних достижений экспериментальной медицины существует возможность на модели фиброза кожи животных определить потенциальные маркеры для дифференциальной диагностики патологических процессов, происходящих в тканях при заживлении раны. На основании полученных данных, транслировав результаты, разработать прогностические критерии исходов заживления ран у пациентов. Этой проблеме и посвящено настоящее исследование.

**Цель исследования:** изучить особенности патогенеза формирования рубцовой ткани с помощью оптических технологий при повреждениях мягких тканей.

**Задачи исследования:**

1. Изучить оптические параметры кожи при развитии фиброза в эксперименте.
2. Определить маркеры воспаления, гипоксии и фиброза на основе анализа корреляции оптических и морфологических параметров.
3. Разработать прогностические критерии исходов фибропролиферативного процесса.
4. Обосновать индивидуальный подход к лечению послеоперационных ран на основе разработанных критериев.

**Научная новизна**

Впервые проведено сравнительное исследование, направленное на изучение оптических параметров кожи в рамках экспериментальной модели фиброза на разных стадиях этого процесса. Изучение оптических параметров кожи в рамках отработываемой модели в сопоставлении с результатами гистологического исследования, иммунофлюоресцентных и иммунохимических показателей позволило разработать критерии для неинвазивной дифференциальной диагностики воспаления, гипоксии и фиброза.

Была проведена оценка выбранных оптических критериев неинвазивной диагностики с применением флюоресцентной спектроскопии и оптической тканевой оксиметрии для прогнозирования исхода процесса заживления кожных ран. Обоснована возможность трансляции полученной технологии в хирургическую практику для оценки вероятности развития патологического послеоперационного рубца.

Проведенные исследования позволили обосновать индивидуальный подход к лечению послеоперационных ран с учетом преобладающего патологического процесса и прогнозировать исход заживления раны.

**Теоретическая и практическая значимость работы**

Оценка оптических параметров кожи с применением метода флюоресцентной спектрометрии и оптической тканевой оксиметрии на животной модели бле-

омицин-индуцированного фиброза кожи позволила выявить корреляции с гистологической картиной. Изучение фиброза в динамике позволило получить новые фундаментальные данные о развитии этого патологического процесса на разных стадиях.

В результате сопоставления гистологических, иммунохимических и данных флюоресцентной микроскопии были разработаны критерии дифференциальной диагностики преобладающих процессов при заживлении ран кожи, которые, с одной стороны, могут быть использованы в клинической практике, а с другой стороны, позволяют обосновать информативность применения флюоресцентной спектрометрии и оптической тканевой оксиметрии в диагностических целях.

Проведенные исследования позволили подтвердить высокую прогностическую информативность выбранных критериев в модели на животных, а также в клинической практике.

Разработка критериев диагностики воспаления, гипоксии и фиброза в эксперименте на мышцах открывает возможность изучения дифференцированного подхода к лечению заболеваний кожи у людей, так как позволяет оценить на разных сроках болезни преобладающий патологический процесс.

#### **Основные положения, вынесенные на защиту:**

1. Флюоресцентная спектрометрия и оптическая тканевая оксиметрия позволяют зафиксировать специфические оптические маркеры воспаления и гипоксии при развитии фиброза.

2. Одновременное измерение флюоресценции коллагена, порфиринов и удельного потребления кислорода позволяет судить о метаболической активности тканей и определить преобладающий патологический процесс и его стадии.

3. Флюоресцентная спектрометрия и оптическая тканевая оксиметрия может быть использована в клинической практике для прогнозирования исхода заживления кожных ран.

### **Внедрение в практику и учебный процесс.**

Полученные результаты внедрены в практическую работу отделения челюстно-лицевой хирургии, отдела клинических и экспериментальных исследований, а также в учебный процесс кафедры челюстно-лицевой хирургии и госпитальной хирургической стоматологии государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

### **Степень достоверности и апробация работы.**

Достоверность полученных результатов определяется достаточным количеством материала, сравнительным характером исследования. Помимо этого, результаты диссертационного исследования были доложены на профильных конференциях и опубликованы в рецензируемых научных изданиях, что подтверждает объективность сделанных выводов.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на 11-й Международной совместной конференции по биомедицинским инженерным системам и технологиям (BIODEVICES), Фунчал, Португалия, 2018 г.; на XXIX Международной конференции «Лазеры в науке, технике, медицине» г. Москва, 2018 г.; на Уральском симпозиуме биомедицинской инженерии, радиоэлектроники и информационных технологий (USBEREIT), г. Екатеринбург, 2019 г. В 2017 году был получен Грант Российского фонда фундаментальных исследований 18-02-00564 А по теме «Разработка критериев для диагностики фиброза кожи на основе оптических методов».

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 4 в журналах и сборниках, индексируемых в международной базе цитирования Scopus, 1 статья в рецензируемом журнале, для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 1 статья в сборнике, индексируемом РИНЦ. Получен 1 патент РФ на изобретение и подана 1 заявка на патент.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 128 страницах печатного текста, состоит из введения, обзора литературы, характеристик экспериментальных животных и пациентов, методов исследования, а также 2-х глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций; иллюстрирована 46 рисунками, содержит 2 таблицы; списка сокращений и списка литературы, содержащего 175 источников, из них 17 отечественных и 158 иностранных.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Протокол настоящего исследования был одобрен локальным комитетом по этике и утвержден решением ученого совета государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского». Работа проведена на базе отдела клинических и экспериментальных исследований (лаборатория медико-физических исследований, руководитель д.т.н. Рогаткин Д.А.) с привлечением патологоанатомического отделения (руководитель к.м.н. Федоров Д.Н.) и научно-исследовательской лаборатории института (руководитель д.м.н., профессор Василенко И.А.), а также лаборатории конфокальной микроскопии МГУ им. М.В. Ломоносова (руководитель к.м.н. Мосейнович М.М.).

Первый этап работы (экспериментальный) проведен на лабораторных животных (N=54) – беспородных мышах в возрасте 6 недель, массой 25 - 30 грамм, которые были разделены на две группы, чтобы обеспечить сравнительный характер исследования. Первой группе (группа «блеомицин») (N = 33) вводились подкожные инъекции блеомицина в дозировке 0,1 мл (концентрация 0,5 мг / мл). На животных группы «блеомицин» была отработана модель блеомицин-индуцированного фиброза кожи. Второй группе (группа «физ. р-р») (N = 21) вводились подкожные инъекции 0,1 мл 0,9 % изотонического раствора натрия хлорида. Инъекции животным обеих групп выполнялись ежедневно в течение 21 дня в предварительно депилированную кожу.



Второй этап (клинический) включал исследование возможности применения флюоресцентной спектрометрии и оптической тканевой оксиметрии для прогноза течения и исхода заживления раны. Этап проведен с участием 17 пациентов с кожными ранами различной локализации. В группе было 7 мужчин и 10 женщин, средний возраст составил  $37 \pm 5,1$  года (от 24 до 49 лет). У 11 пациентов поражение было травматического характера. Была выполнена первичная хирургическая обработка раны, и наложены первичные швы. Локализация поражения: у 8 пациентов – лицевой отдел головы (4 – щечная область, 2 – скуловая область, 2 – лобная область), 2-х пациентов – мягкие ткани предплечья, у 1-го бедра. У 6 пациентов наложение швов было выполнено после плановых операций (у 5 пациентов после субтотальной резекции щитовидной железы, у 1 – после тотальной паратиреоидэктомии).

Чтобы исключить влияние шовного материала и техники шва, в исследование были включены пациенты, у которых был наложен внутрикожный шов при помощи атравматического шовного материала с режущей иглой и нитью Prolen 4/0 (ETHICON, LLC, регистрационный номер ФСЗ 2010/06040). На 7-10 сутки нить удалялась.

Во всех случаях раны заживали первичным натяжением, однако исход заживления раны различался. У 10 пациентов заживление раны прошло с формированием нормотрофического рубца, у 7 – с образованием гипертрофических и келлоидных рубцов.

*Методы исследования.* Исследование проведено с использованием оптических, гистологических, иммунохимических и иммунофлюоресцентных методов обследования.

Все оптические измерения проводились на многофункциональном лазерном диагностическом комплексе «ЛАКК – М» (ООО НПП "ЛАЗМА"), принципиальная схема которого представлена на рисунке 1. Режим работы «Флюоресценция» на ЛАКК-М реализует метод лазерной флюоресцентной спектрометрии. К поверхности исследуемого объекта с помощью оптоволоконного зонда по осветительному волокну доставляется маломощное излучение от выбранного источника.

Через приёмное волокно вторичное излучение доставляется к спектрометру, а его спектр отражается на мониторе в режиме реального времени.

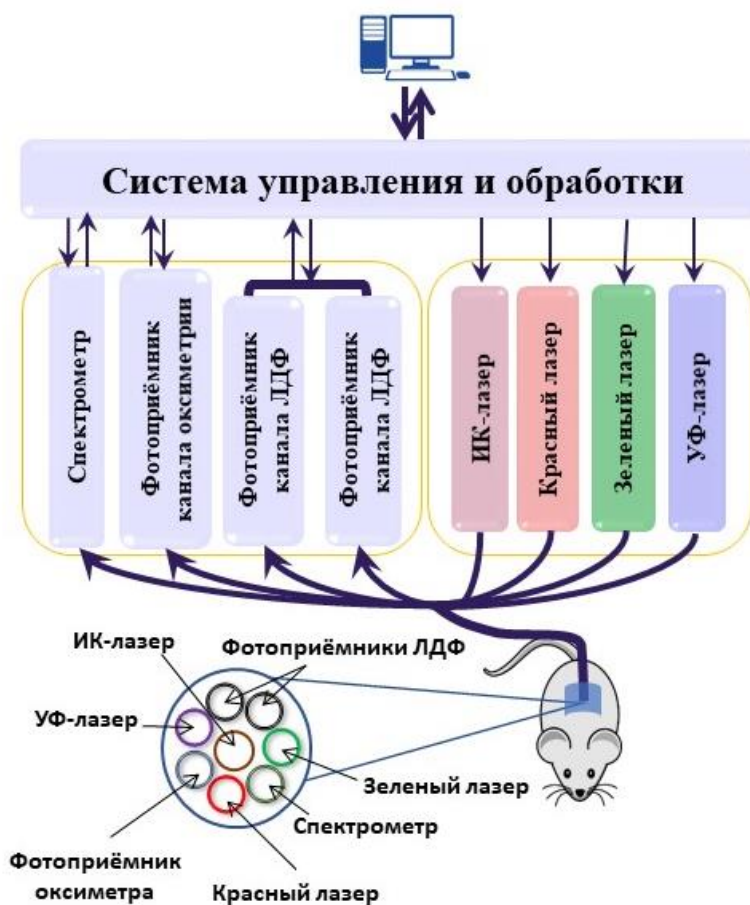


Рисунок 1. Принципиальная схема диагностического комплекса ЛАКК-М

Для возбуждения флюоресценции в различных частях видимого и ближнего УФ спектра были использованы источники с длинами волн  $\lambda_e = 365$  и  $535$  нм. Для коллагена длина волны флюоресценции  $\lambda_f = 455$  нм, для порфирина  $\lambda_f = 610$  нм, для липофусцина  $\lambda_f = 585$  нм. Отметим, что вклады коллагена и эластина в общий спектр трудноразделимы, поэтому далее считали, что флюоресценция на длине волны  $\lambda_f = 455$  нм отражает наличие обоих флюорофоров.

В данной работе оценивалась динамика интенсивности флюоресценции на данных длинах волн при отслеживаемых равных мощностях возбуждающего флюоресценцию излучения.

Оптическая тканевая оксиметрия проводилась в режиме «Микроциркуляция», где комплекс ЛАКК-М непрерывно измеряет сатурацию гемоглобина кислородом и объем фракции гемоглобина в зондируемой области исследования. Вычисление данных показателей производилось по методологии абсорбционной спектроскопии и основано на разнице в регистрируемых сигналах при зондировании биоткани в красном и зеленом спектральных диапазонах длин волн. Сатурация гемоглобина определяется на основе разных оптических свойств оксигенированных и дезоксигенированных фракций гемоглобина, содержащихся в крови диагностического объёма. На основе данных показателей, усредненных по времени измерения, вычислялось удельное потребление кислорода клетками ( $U$ ), характеризующее потребление кислорода на единицу объема циркулирующей в ткани крови по формуле:

$$U = \frac{(S_p O_2 - S_t O_2)}{V_b},$$

где  $S_t O_2$  - средняя тканевая сатурация оксигемоглобина (в процентах),  $V_b$  - среднее объемное кровенаполнение (в процентах). При этом сатурация оксигемоглобина ( $S_p O_2$ ) в артериальной крови была принята равной 98%.

Для исключения влияния индивидуального начального биохимического состава тканей, помимо динамики величин интенсивностей флюоресценции ( $I_f$ ), удельного потребления кислорода ( $U$ ) и концентраций С-реактивного белка, анализировались также динамика их относительных изменений  $D(P)$  по сравнению с исходным уровнем (на 0 сутки):

$$D_i^n (P) = \frac{P_n(i)}{P_{n=0}(i)},$$

где  $P_n(i)$  – один из анализируемых показателей, определенный на  $n$  сутки ( $n=0, 7, 14$  или  $21$ ) для  $i$ -ого животного.

Показания снимались с поверхности кожи непосредственно над экспериментальной областью.

Помимо этого, на указанных этапах проводились различные исследования биологических жидкостей и тканей экспериментальных животных. Морфологи-

ческие исследования включали подготовку и оценку гистологических препаратов с окраской гематоксилином и эозином для оценки воспалительных и структурных изменений тканей, а также окраску по Массону (трихром) для оценки площади коллагеновых волокон. Флюоресцентная микроскопия препаратов позволила оценить параметры сосудистого русла и специфический клеточный состав тканей. Иммунохимическое исследование сыворотки крови дало возможность оценить изменения С – реактивного белка. На клиническом этапе работы пациентам проводились оптические измерения и биопсия тканей в области рубца с последующим ее морфологическим исследованием.

*Методы статистического анализа.* Проверка выборок на соответствие закону нормального распределения проводилась при помощи критерия Шапиро-Уилка. Переменные (имеющие нормальное распределение) представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение.

При сравнении двух выборок применялся непарный критерий Стьюдента с учетом равенности дисперсий. При анализе различий в двух группах на разных временных точках применялся двухфакторный дисперсионный анализ в качестве омнибусного теста. Проверка соблюдения допущений метода показала приемлемое качество модели. При проведении апостериорных сравнений проводилась коррекция уровня статистической значимости при помощи подхода FDR (false discovery rate). На графиках указывали среднее значение и 95%-доверительный интервал (95% ДИ).

Для оценки информативности выбранных критериев вычисляли чувствительность (долю наблюдений с интересующим исходом и наличием признака среди всех наблюдений с исходом) и специфичность (долю наблюдений без наступления интересующего исхода и отсутствием признака среди всех наблюдений без наступления исхода интереса), а также 95%ДИ. При этом пороговое значение признака определяли при помощи вычисления индекса Юдена (Youden's index, J statistic). Для оценки балансовой точности вычисляли площадь под ROC-кривой и 95%ДИ, для оценки силы связи признака и исхода – отношение шансов и 95%ДИ.

Расчеты проводились в программе GraphPad Prizm v.8 Оценивался двусторонний уровень значимости. Значения  $p < 0,05$  считались статистически значимыми.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Оптические параметры в эксперименте

С целью исключения влияния межсубъектной вариабельности мы проанализировали динамику индексов оптических параметров кожи (по отношению к интактной коже) – рисунок 2.

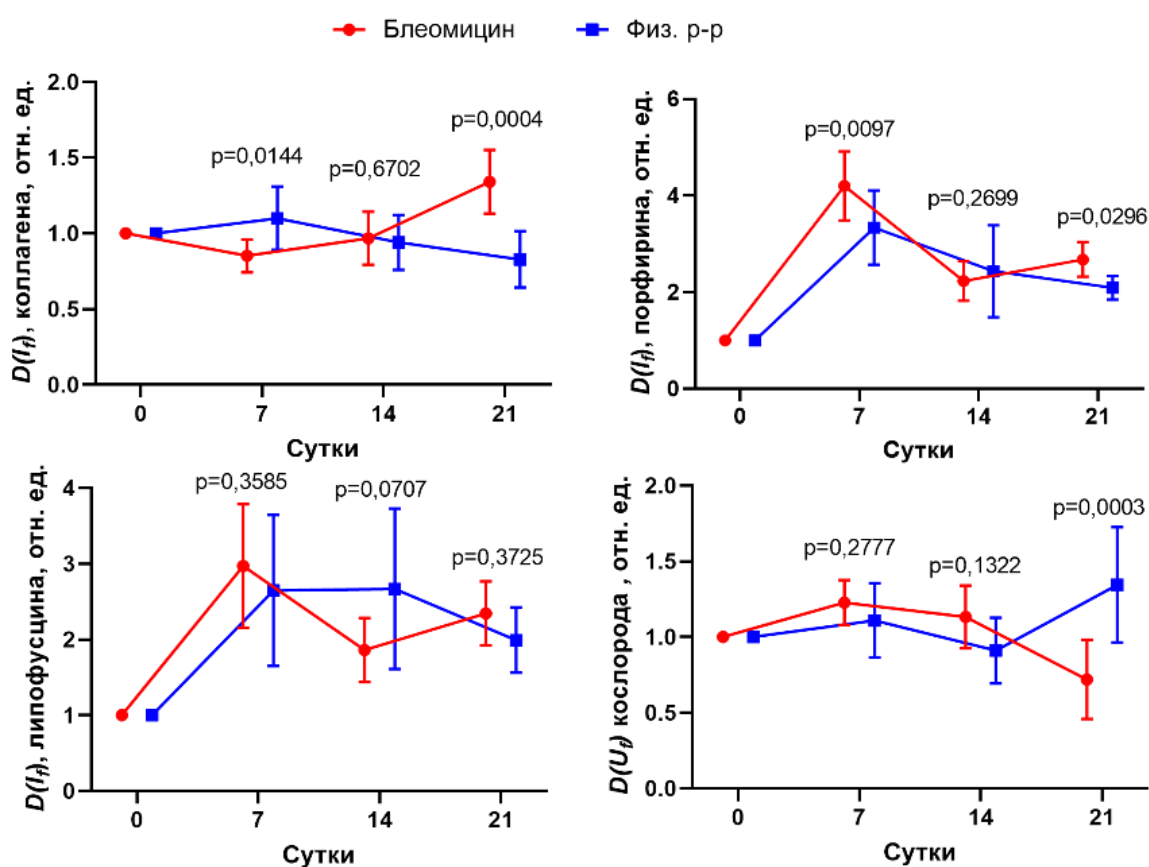


Рисунок 2. Динамика оптических параметров кожи у животных групп «блеомицин» и «физ. p-p» в эксперименте.

Современная концепция позволяет делить фиброгенный ответ на четыре фазы, перекрывающие друг друга: 1-я фаза – инициация ответа, вызванного первичным повреждением, 2-я фаза – активация эффекторных клеток, 3-я фаза – выработка внеклеточного матрикса, 4-я фаза – динамическое осаждение/недоста-

точная резорбция внеклеточного матрица. Результаты измерения флюоресценции коллагена, порфирина и удельного потребления кислорода в группе «блеомицин», в совокупности с морфологической картиной кожи, позволяют нам провести корреляцию с фазами фиброгенного ответа. Так, в 1-ю и 2-ю фазы (0-7 сут) наблюдается повышение потребления кислорода эффекторными клетками за счет первичного повреждения ткани и следующего за ним воспаления и гипоксии потребления. Это сопровождается увеличением интенсивности флюоресценции порфирина. В 3-й фазе (7-14 сут) начинает нарастать флюоресценция коллагена, а также уменьшается потребление кислорода и содержание порфирина, что свидетельствует об ослаблении процесса воспаления. 4-я фаза (14-21 сут) сопровождается избыточным накоплением межклеточного матрикса с обеднением клеточными элементами и резким падением потребления кислорода, значительным ростом содержания коллагена и повышенным уровнем порфирина. Учитывая, что нами не были зафиксированы различия в интенсивности флюоресценции липофусцина между группами, мы не можем охарактеризовать его как информативный маркер, в отличие от интенсивности флюоресценции коллагена, порфирина и потребления кислорода.

Таким образом, как свидетельствуют полученные нами данные, на фоне различных вариантов течения фибропролиферативного процесса отмечаются характерные изменения оцениваемых нами показателей. Воспаленная и пролиферирующая ткань имеет высокую потребность в кислороде. Наиболее ярко это выражено в структуре незрелых, метаболически активных тканей рубца. Однако в тканях уже сформированного фиброза, в том числе за счет сокращения количества клеточных элементов, эта потребность уменьшается. В нашем эксперименте мы подтвердили это гистологически, а результаты вычисления удельного потребления кислорода клетками и показателя эндогенной флюоресценции коллагена и порфирина в группе «блеомицин» отразили данную зависимость.

### **Результаты гистологических исследований.**

В ходе эксперимента в группе «блеомицин» удалось воспроизвести модель фиброза кожи. Данный результат был подтвержден гистологическими исследованиями. На 7-е сутки в группе «блеомицин» развивалась воспалительная инфильтрация долек жировой ткани лимфоцитами и гистиоцитами. Практически у всех животных из группы «блеомицин» процесс воспаления начинался именно с подкожно-жирового слоя с дальнейшим распространением на другие слои дермы. На 14-е сутки происходило частичное замещение жировой ткани межклеточным матриксом и уменьшение выраженности воспалительной инфильтрации. В заключительной стадии эксперимента, на 21-е сутки при микроскопии мы отметили обширные очаги накопления межклеточного матрикса, обедненные клеточными элементами (гипоцеллюлярный фиброз), сглаженность коллагеновых волокон.

В препаратах животных группы «физ. р-р», начиная с 7-х суток эксперимента, фиксировались воспалительные изменения в подкожном слое дермы. Эти же изменения без тенденции к прогрессированию были отмечены нами и во все последующие этапы эксперимента в этой группе. Таким образом, данные воспалительные изменения можно с уверенностью трактовать как неспецифическую реакцию, вызванную ежедневными инъекциями без развития фиброза.

Одним из результатов моделирования фиброза кожи было постепенное утолщение дермы животных за счет избыточного количества коллагена, что было подтверждено морфологическими и статистическими данными - рисунок 3.

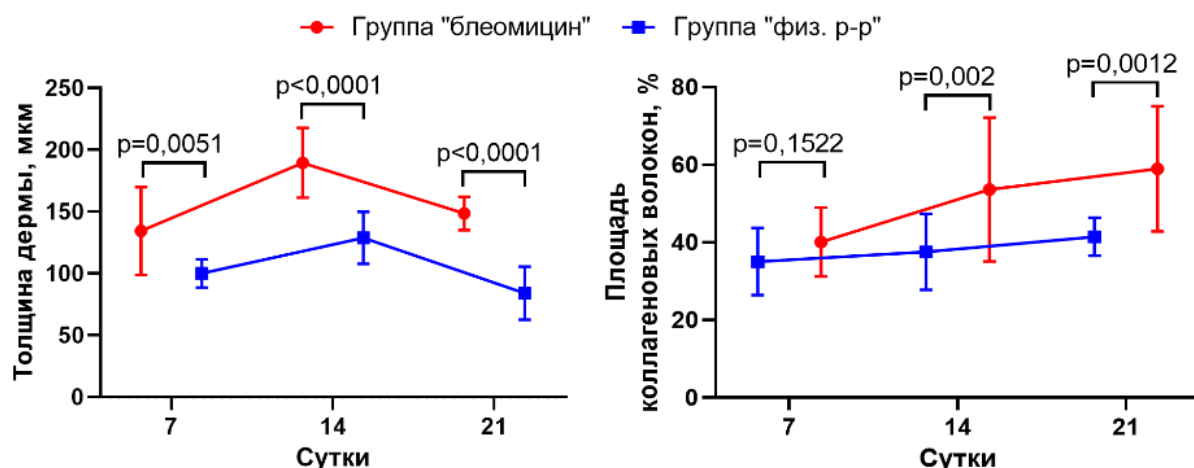


Рисунок 3. Динамика толщины дермы и площади коллагеновых волокон у животных обеих групп.

### Информативность оптических параметров.

Наибольший интерес с практической точки зрения представляет собой возможность прогнозирования варианта течения фибропролиферативного процесса, имеющего в своем исходе образование гипертрофического и келоидного рубца. При этом важно определить пороговые значения показателей, свидетельствующих о высоком риске такого исхода. ROC-анализ показал, что в целом интенсивность флюоресценции коллагена является информативным скрининговым критерием – площадь под ROC-кривой составила 0,878 [95% ДИ 0,698; 0,97],  $p < 0,0001$ . При этом при пороговом значении этого показателя  $\geq 1,17$  достигаются значения чувствительности 0,714 [95% ДИ 0,492; 0,916] и специфичности 1 [95% ДИ 76,8; 1]. Данный признак крайне сильно ассоциирован с исходом (развитием фиброза) – отношение шансов 51,3 [95%ДИ 4,67; 564,16]. Интенсивность флюоресценции порфирина имеет площадь под ROC-кривой 0,782 [95% ДИ 0,510; 0,944],  $p = 0,021$ . При пороговом значении  $\geq 2,3$  достигаются значения чувствительности 0,727 [95% ДИ 0,39; 0,94] и специфичности 1 [95% ДИ 0,478; 1]. Данный признак также крайне сильно ассоциирован с исходом (развитием фиброза) – отношение шансов 10,67 [95%ДИ 1,74; 65,27]. Площадь под ROC-кривой потребления кислорода составила 0,9 [95%ДИ 0,648; 0,992],  $p < 0,0001$ . При пороговом значении  $\leq 0,79$  достигаются значения чувствительности 0,727 [95% ДИ 0,39; 0,94] и специфичности 1 [95% ДИ 0,478; 1]. Данный признак также крайне



сильно ассоциирован с исходом (развитием фиброза) – отношение шансов 12 [95%ДИ 1,31; 110,52].

Разнонаправленную динамику оцениваемых нами параметров можно объяснить различными процессами, преобладающими в течение заживления раны. Отличительной чертой фиброза кожи является значительное увеличение интенсивности флюоресценции коллагена. Однако в зависимости от стадии этого процесса можно выделить характерные изменения и остальных показателей. Данную концепцию и пороговые значения оцениваемых параметров мы обобщили в таблице 1.

Таблица 1. Показатели оптических параметров кожи при различных вариантах течения фибропролиферативного процесса.

Параметр	Регенерация через фибропролиферативный процесс			Регенерация без фибропролиферативного процесса
	Гипоксия	Воспаление	Фиброз	
$D(I_\rho)$ коллаген	$\geq 1,17$	$\geq 1,17$	$\geq 1,17$	$< 1,17$
$D(I_\rho)$ порфирины	$\geq 2,3$	$\geq 2,3$	$< 2,3$	$\geq 2,3$
$D(U_\rho)$ кислород	$\leq 0,79$	$> 0,79$	$\leq 0,79$	$> 0,79$

Таким образом, оптические параметры кожи могут быть использованы для оценки стадии течения фиброза, а также – для прогнозирования его исхода. Указанные критерии были апробированы нами в клинической практике.

### **Оптические параметры в клинической практике.**

Для оценки возможности использования оцениваемых нами параметров в клинической практике мы сравнили их у пациентов с различным характером течения рубцевания. Мы отметили, что у пациентов с неблагоприятным течением фибропролиферативного процесса кожи (при заживлении кожных ран) имеется

сильная статистически значимая связь между выбранными нами оптически параметрами (интенсивность флюоресценции коллагена и порфирина, удельное потребление кислорода). Неблагоприятное течение фибропролиферативного процесса сопряжено со значительно повышенными значениями интенсивности флюоресценции коллагена и порфирина, а также сниженным потреблением кислорода. Это приводит к образованию гипертрофического или келоидного рубца. Диагностические критерии, выработанные на животных моделях, были применены нами при прогнозировании исходов заживления кожных ран. Клинический опыт показал их достаточную клиническую прогностическую информативность.

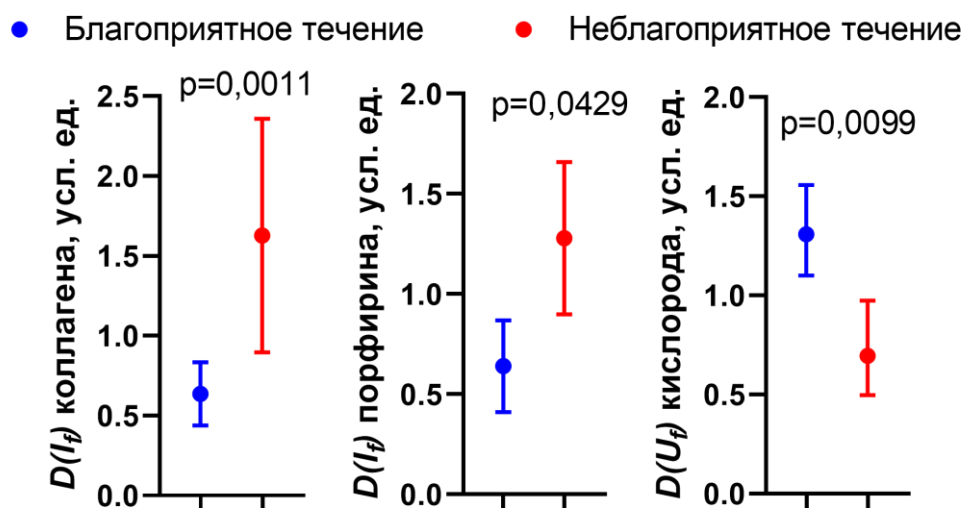


Рисунок 4. Показатели оптических параметров у пациентов с нормо- и гипертрофическими/келоидными рубцами.

В современном понимании фиброз описывается как динамически протекающий и обратимый процесс, связанный с воспалением и гипоксией, своевременное воздействие на которые повышает терапевтические возможности. Реакция фиброзированных тканей на тот или иной вид лечения зависит от адекватности действующего лечебного фактора характеру патологического процесса, определяющего функциональное состояние ткани. Клиницисту объективно определить активность и вклад отдельных процессов (воспаление-гипоксия-фиброз) на основании осмотра не представляется возможным.

На основании полученных первичных данных и динамики их относительных изменений, анализа корреляции оптических (флюоресценции и тканевой оксиметрии), морфологических параметров, результатов иммунофлюоресцентных и иммунохимических исследований мы полагаем, что оптические маркеры могут характеризовать как структурные характеристики тканей (фиброз), так и патологические процессы, такие как воспаление и гипоксия, протекающие в них.

В результате проведенной работы предложен алгоритм выбора клинической тактики – рисунок 5.

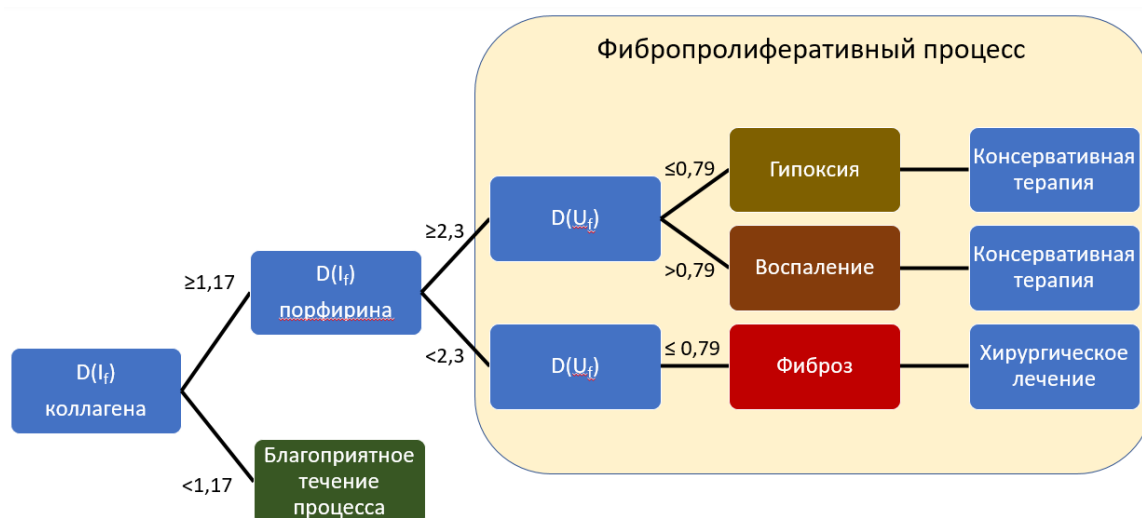


Рисунок 5. Алгоритм выбора клинической тактики на основе оптических параметров кожи.

Таким образом, результаты проведенного исследования продемонстрировали возможность объективного неинвазивного динамического наблюдения за процессами воспаления и гипоксии в рамках развития фиброза кожи с применением методов лазерной флюоресцентной спектроскопии и оптической тканевой оксиметрии. Предложенный подход позволяет получить количественный критерий для диагностики преобладающего патологического процесса и проведения периодизации фиброза. Это в свою очередь может позволить расширить возможности практикующих врачей в диагностике фиброза, персонализации лечебной тактики, прогнозировании исхода заболевания.

## Выводы

1. Флюоресцентная спектрометрия и оптическая тканевая оксиметрия – являются неинвазивными диагностическими методами, позволяющими с высокой точностью (площадь под ROC-кривой 0,782-0,9) дифференцировать преобладающие патогенетические механизмы фиброза, а также прогнозировать его исход.
2. Информативными маркерами фиброза, воспаления и гипоксии при развитии послеоперационного рубца кожи являются индексы интенсивности флюоресценции коллагена, порфирина и индекс потребления кислорода.
3. Регистрация индекса интенсивности флюоресценции коллагена более 1,17, индекса интенсивности флюоресценции порфирина более 2,3 свидетельствует о фибротическом процессе с высоким риском формирования гипертрофического или келоидного рубца, а регистрация индекса потребления кислорода при этом позволит выявить преобладание воспаления или гипоксии. Регистрация индекса интенсивности флюоресценции коллагена более 1,17, индекса интенсивности флюоресценции порфирина менее 2,3 и индекса потребления кислорода менее 0,79 свидетельствует о завершенности процесса формирования рубца. Регистрация индекса интенсивности флюоресценции коллагена менее 1,17 свидетельствует об отсутствии фибропролиферативного процесса и позволяет прогнозировать образование нормотрофического рубца.
4. Лечебная тактика при заживлении раны должна основываться на индивидуальных оптических индексных показателях с учетом преобладающего патогенетического механизма и стадии процесса (завершенный или незавершенный фиброз).

## Практические рекомендации

1. Поскольку течение процесса фиброза является стадийным, следует проводить оценку оптических параметров в динамике для своевременного выявления повышенного риска развития келоидного или гипертрофического рубца и соответствующего лечебного воздействия.
2. Для стандартизации и объективизации полученных оценок, а также исключения межсубъектной вариабельности результатов следует отдать предпочтение индексным показателям (по отношению к интактной коже той же или контрлатеральной анатомической области), а не абсолютным значениям флюоресцентной спектроскопии.
3. Пороговыми значениями индексов интенсивности флюоресценции коллагена, порфирина и потребления кислорода являются 1,17, 2,3 и 0,79 соответственно. При этом для выявления преобладающего патогенетического механизма и стадии процесса данные оценки следует использовать в комплексе.
4. О благоприятном течении заживления раны свидетельствуют индексы интенсивности флюоресценции коллагена менее 1,17, что требует тактики наблюдения за пациентом. В иных случаях существует повышенный риск образования патологического рубца. При этом регистрация индексов флюоресценции коллагена более 1,17, порфирина менее 2,3 и потребления кислорода менее 0,79 свидетельствует о завершенном фибротическом процессе, и при наличии показаний возможна хирургическая тактика лечения; регистрация индексов флюоресценции коллагена более 1,17, порфирина более 2,3 и потребления кислорода менее 0,79 свидетельствует о текущем фибротическом процессе с преобладанием гипоксии; а регистрация индексов флюоресценции коллагена более 1,17, порфирина более 2,3 и потребления кислорода более 0,79 свидетельствует о текущем фибротическом процессе с преобладанием воспаления, что требует назначения консервативной противовоспалительной терапии.

## **Список работ, опубликованных по теме диссертации:**

### **А. В рецензируемых научных журналах:**

1. Chursinova Y. Optical technology for fibrotic skin changes objectification in experimental systemic scleroderma/ Chursinova Y., Kulikov D., Rogatkin D., Mosalskaya D., Bobrov M.// BIODEVICES 2018 - 11th International Conference on Biomedical Electronics and Devices, Proceedings; Part of 11th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies, V. 1: BIODEVICES 2018 - P. 194-199.
2. Chursinova Y.V. Optical spectroscopy for skin fibrosis / Chursinova Y.V., Kulikov D.A., Rogatkin D.A., Raznitsyna I.A., Mosalskay D.V. // Proceedings - International Conference Laser Optics 2018, ICLO 2018 - P. 513.
3. Chursinova, Yu.V. Laser fluorescent spectroscopy and optical tissue oximetry in diagnostics of skin fibrosis / Chursinova Yu.V., Kulikov D.A., Rogatkin D.A., Petritskaya E.N., Molochkov A.V.// Biomedical Photonics 2019, V. 8, N. 1. – P. 38-45.
4. Raznitsyna, I. Optical System for Assessment of Fibrotic Changes/ Raznitsyna I., Chursinova Y., Rogatkin D., Kulikov D. // Proceedings - 2019 Ural Symposium on Biomedical Engineering, Radioelectronics and Information Technology, USBEREIT 2019 - P. 135-138.

### **Б. В других научных изданиях:**

5. Чурсинова Ю.В. Диагностический потенциал оптической спектроскопии для анализа фиброзных изменений/ Чурсинова Ю.В., Разницина И.А., Мосальская Д.В., Рогаткин Д.А., Куликов Д.А.// Лазеры в науке, технике, медицине: Сборник научных трудов. Том 29 / под ред. В.А. Петрова -М.: МНТОРЭС им. А.С. Попова, 2018 – С. 182-186.
6. Чурсинова Ю.В. Способ прогнозирования формирования патологического рубца при заживлении операционной раны/Андреева В.В., Сипкин А.М., Кузьмина Е.Н., Разницина И.А., Куликов Д.А., Рогаткин Д.А., Чурсинова Ю.В.// Патент № 2018132394 от 11.09.2018.