На правах рукописи

Михайличенко Максим Игоревич

Местная холодовая травма: клинико-патогенетические механизмы и прогнозирование исходов

3.1.9. Хирургия (медицинские науки)
3.3.3. Патологическая физиология (биологические науки, медицинские науки)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Чита – 2021

Работа выполнена на кафедре факультетской хирургии с курсом урологии и кафедре патологической физиологии в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:
Заслуженный врач РФ,
доктор медицинских наук, профессор **Шаповалов Константин Геннадьевич**

Официальные оппоненты:
Бобровников Александр Эдуардович – доктор медицинский наук, доцент, заведующий ожоговым отделением Отдела термических поражений ФГБУ «Национальный исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва;
Савченко Андрей Анатольевич – доктор медицинский наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем севера Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Красноярск;
Теплякова Ольга Валерьевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры общей хирургии имени профессора М.И. Гульмана ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской федерации, г. Красноярск.

Ведущая организация:
Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург.

Защита диссертации состоится « » октября 2021 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета 21.2.013.02 при ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России по адресу: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России по адресу: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1 и на сайте http://www.krasgmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.
Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент Кочетова Людмила Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Значимость отморожений обусловлена значительным количеством пострадавших в регионах с холодным климатом, длительностью хирургического лечения, утратой трудоспособности и высоким уровнем инвалидизации пострадавших (Шаповалов К.Г. и соавт., 2013; Долганова Т.И. и соавт., 2017; Hutchison R.L. el al., 2014).

Противоречивые подходы к оперативной тактике при местной холодовой травме ставят перед хирургами вопросы, которые до сих пор остаются открытыми и требуют дальнейшего уточнения, изучения и обсуждения. В современной литературе практически нет работ, посвященных оперативному лечению при отморожениях. В настоящее время не существует четких сроков и показаний к оперативному лечению отморожений. Выжидательная тактика, регламентированная в национальных клинических рекомендациях, с одной стороны обоснована органосберегающей мотивацией, с другой – создает предпосылки для формирования осложнений и значительно удлиняет сроки стационарного лечения. Весомый процент послеоперационных осложнений заставляет усомниться в целесообразности применяемой тактики и требует разработки новых способов как ранней диагностики глубины поражения, так и хирургического лечения холодовой травмы (Лебедь А.А. и соавт., 2010; Шаповалов К.Г. и соавт. 2013; Цхай В.Ф. 2013; Reitan I. et al., 2019).

Существующие в настоящее время классификационные критерии отморожений основаны на этиологии, сроках и глубине холодового повреждения, но не содержат признаков, определяющих наличие и характер ранних и поздних осложнений местной холодовой травмы, а также особенностей клинического течения и оперативного лечения последствий (Сизоненко В.А. и соавт., 2008). Уточнение и углубление классификационных критериев местной холодовой травмы будут способствовать своевременной коррекции лечения, а также позволят уточнить экономическую составляющую терапии.

Патогенез отморожений сложен и многообразен. Вследствие холодового воздействия происходят нарушения гемореологии в пораженных сегментах, формируется стойкая эндотелиальная дисфункция с изменением периферической иннервации в очаге альтерации и перифокально, что приводит к тромбозам и некрозу пораженных тканей конечностей. Дальнейшее течение раневого процесса сопровождается необходимостью калечащих и травматичных операций, сопровождающихся осложненным послеоперационным периодом и существенной утратой трудоспособности (Винник Ю.С. и соавт., 2014; Петрищев Н.Н. и соавт., 2017; Шаповалов К.Г. 2019; Hirose K. et al., 2019).

Таким образом, перспективным и актуальным является поиск новых максимально простых и эффективных патогенетически обоснованных способов ранней диагностики глубины поражения и исходов местной холодовой травмы, которые, оптимизируют подходы к хирургическому лечению местной холодовой травмы и улучшат ее исходы.

Степень разработанности темы

Несмотря на определенные успехи достигнутые в изучении патогенеза и лечения отморожений многие вопросы остаются открытыми и требуют дальнейшей разработки с внедрением в практическое здравоохранение. Врачи-хирурги нуждаются в совершенных прикладных алгоритмах лечения пациентов с местной холодовой травмой, так как в настоящее время не существует классификации осложнений и последствий отморожений, четких сроков и показаний к оперативному лечению криотравмы. Регламентированная тактика обоснована, однако частая инвлидизация, наличие и высокий процент послеоперационных осложнений требует разработки новых способов и прикладных компьютерных программ ранней диагностики как глубины поражения, так и возможных рисков послеоперационного периода, а также новых способов комплексного лечения холодовой травмы.

Цель работы:

На основе расширения представлений о клинических и патогенетических закономерностях местной холодовой травмы разработать прогностические критерии исходов отморожений и улучшить результаты хирургического лечения местной холодовой травмы.

Задачи исследования:

1. Оценить динамику электронейромиографических потенциалов и маркеров нейродеструкции (сывороточного кальпротектина, периферического нейрофиламента) при комплексном лечении отморожений конечностей.
2. Исследовать состояние микроциркуляторного русла и компонентов регуляции сосудистого тонуса у пациентов с местной холодовой травмы.
3. Определить активность матриксных металлопротеиназ 2, 9 и их ингибиторов у пациентов с отморожениями.
4. Изучить динамику уровня оксида азота, миелопероксидазы, асимметричного диметиларгинина, количества циркулирующих эндотелиальных клеток, лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов и содержания адгезивных молекул (sP-Sel, sE-sel, CD40L, ICAM-1, VCAM-1) в периферической крови больных с местной холодовой травмой.
5. Разработать классификацию осложнений местной холодовой травмы.

6. Создать критерии диагностики течения и исходов хирургического лечения холодовой травмы, на основе которых оптимизировать тактику комплексного лечения и оценить ее эффективность.

Научная новизна

Впервые установлено, что у пациентов с местной холодовой травмой в крови возрастает содержание маркеров периферической нейродеструкции (сывороточный кальпротектин и периферический нейрофиламент). Максимальная их концентрация зафиксирована на 5 сутки с момента криотравмы.

Впервые выявлено, что у больных с отморожениями изменяются показатели неинвазивной электронейромиографии: амплитуда М-ответа и скорость распространения возбуждения снижались, а резидуальная латентность повышалась. Увеличение массива пораженных холодом тканей у пациентов сопровождается усугублением периферического нейромоделирования.

Впервые выявлено, что в позднем реактивном периоде холодовой травмы в крови пострадавших увеличивается активность матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов, причем снижения их уровня не отмечено в более поздние периоды криотравмы. Увеличение объема пораженных холодом тканей у пациентов сопровождается повышением в крови уровня матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов.

Впервые продемонстрировано, что у пациентов с местной холодовой травмой происходит гиперсекреция молекул межклеточной адгезии (sP-Sel, sE-sel, CD40L, ICAM-1, VCAM-1), асимметричного диметиларгинина и миелопероксидазы на 5 и 30 сутки с момента криотравмы и зависит от объема пораженных холодом тканей. Впервые выявлена обратная связь между содержанием асимметричного диметиларгинина и масштабом альтерированных холодом мягких тканей. Впервые получены сведения об усилении адгезивной способности лимфоцитов к тромбоцитам в позднем реактивном периоде и периоде гранулирования и эпителизации. Увеличение числа ЛТА и степени ЛТА пропорционально массиву поврежденных тканей.

Приоритетным в исследовании является прогнозирование послеоперационных исходов и тяжести местной холодовой травмы. Впервые в качестве прогностического критерия осложненного течения послеоперационного периода и упрощения прогнозирования уровня повреждения тканей при местной холодовой травме III–IV степени дистальных сегментов нижних конечностей выбран способ неивазивной электронейромиографии. Впервые дана оценка значимости параметров электронейромиографии нижних конечностей (амплитуда М-ответа, резидуальная латентность, скорость распространения возбуждения) на основе построения математической модели, основанной на методах линейной регрессии.

Разработана классификация осложнений местной холодовой травмы, которая имеет патогенетическое, методическое и организационно-экономическое значение. В ранние сроки криоповреждения у пострадавших наиболее часто выявляются нарушения чувствительности пораженной конечности, мышечная слабость, судороги, нарушение координации движений. В поздние сроки наблюдается отторжение трансплантата, нагноение, несостоятельность швов и некроз культи. В послеоперационном периоде возможны трофические нарушения, остеомиелит и гангрена дистального сегмента пораженной конечности.

Теоретическая и практическая значимость работы

В работе получены новые данные о периферической нейропатии у пострадавших, ремоделировании межуточного матрикса и коллагена, состоянии микроциркуляции, системы гемостаза, лимфоцитарно-тромбоцитарной коагрегации, экспрессии молекул межклеточной адгезии и асимметричного диметиларгинина, десквамации эндотелиоцитов в зависимости от степени, периода холодовой травмы и объема пораженных тканей. Полученные сведения позволяют расширить представления о патогенезе холодовой альтерации, а также скорригировать комплексные подходы к терапии пострадавших.

На основе полученных данных предложен способ прогнозирования осложнений в послеоперационном периоде при местной холодовой травме, позволяющий выделить группу больных, которым требуется коррекция проводимой терапии в послеоперационном периоде (патент РФ № 2712572).

На материалах исследования разработан способ прогнозирования уровня повреждения тканей при местной холодовой травме III – IV степени дистальных сегментов нижних конечностей, что позволяет своевременно определить условную линию демаркации, а также планировать сроки и объем необходимого лечения, и как следствие, профилактировать развитие послеоперационных осложнений (патент РФ № 2704785).

На основании результатов исследования созданы две программы для ранней диагностики уровня поражения мягких тканей дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III – IV степени. Программы носят прикладной характер, обеспечивают возможность ранней диагностики уровня поражения мягких тканей дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III – IV степени, что позволяет не только в полной мере информировать пациента, но и оптимизировать тактику их ведения (свидетельство о регистрации программы ЭВМ № 2019666297; свидетельство о регистрации программы ЭВМ № 2019612961).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты данного исследования применяются в комплексной терапии пострадавших в Краевом ожоговом центре г. Читы, а также при проведении практических и теоретических занятий на кафедрах патологической физиологии и травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия МЗ РФ, научно-практических конференций и циклов усовершенствования врачей всех специальностей.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с местной холодовой травмой в позднем реактивном периоде и периоде гранулирования и эпителизации отмечается снижение биоэлектрической активности мышц, а также повышение периферического нейрофиламента. Происходит существенная дезорганизация нейродинамики, изменение биомеханизма мышечного сокращения, и, как следствие, замедление процессов репарации. У пациентов с отморожениями изменяются параметры микроциркуляции и сосудистого тонуса.

2. При местной холодовой травме у пациентов происходит ремоделирование тканей зоны повреждения. Выявлена прямая сильная связь между уровнем холодового поражения конечности и активностью процессов конформации межклеточного матрикса.

3. У пациентов с местной холодовой травмой развивается эндотелиальная дисфункция. Объем пораженных тканей прямо пропорционален уровню циркулирующих в крови маркеров повреждения эндотелия.

4. Местная холодовая травма сопровождается деградацией периферических нервов. Для прогнозирования осложненного течения послеоперационного периода и упрощения прогнозирования уровня повреждения тканей при местной холодовой травме III–IV степени дистальных сегментов нижних конечностей обоснован метод электронейромиографии.

Апробация основных положений работы

Результаты исследования доложены на Всероссийской научно-практической конференции анестезиологов и реаниматологов (Чита, 2020); Всероссийской научно-практической конференции анестезиологов и реаниматологов (Чита, 2019); Всероссийской научно-практической конференции анестезиологов и реаниматологов (Чита, 2021); на заседании Общества хирургов Забайкальского края (Чита, 2019); Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 55-летию Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2008); на Межобластной научно-практической конференции травматологов и ортопедов Дальнего Востока, Восточной Сибири, Якутии (Благовещенск, 2005); на I съезде комбустиологов России (Москва, 2005); первом Дальневосточном ангиологическом

форуме с международным участием (Хабаровск, 2008); на Всероссийской научно-практической конференции «Современные представления об иммунокоррекции» (Пенза, 2008); на II съезде физиологов СНГ (Кишинев, 2008); на заседании Читинского отделения физиологического общества имени И.П. Павлова (Чита, 2009).

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности

Диссертационная работа соответствует формулам специальностям 3.1.9. Хирургия (медицинские науки) и 3.3.3. Патологическая физиология (биологические науки, медицинские науки). Результаты проведенного исследования соответствуют областям исследования специальностям, конкретно 1, 2, 3, 5 пунктам паспорта хирургия и 1, 2, 3, 5, 7, 9 пунктам паспорта патологическая физиология.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 41 научная работа, из них 35 журнальных статей, в том числе 33 (из них 6 зафиксировано в единой научной базе Scopus, 2 - в единой поисковой интернет-платформе WoS) – в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных ВАК Минобрнауки РФ для публикации основных результатов докторских диссертаций, получено 3 положительных решения о выдаче патента на изобретение, получено 2 свидетельства о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Объем и структура диссертации

Диссертационное исследование изложено на 198 страницах машинописного текста и состоит из введения, 10-ти глав, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы. Список литературы включает 319 источников, из них 45 – на русском и 274 – на иностранных языках. Текст иллюстрирован 36 таблицами и 15 рисунками.

Исследовательская работа выполнена на базах кафедры факультетской хирургии с курсом урологии и кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, краевого ожогового центра на базе «Городской клинической больницы №1» г. Читы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Проведено одноцентровое проспективное открытое нерандомизированное контролируемое интервенционное исследование.

В исследование включены 213 больных с III и IV степенью тяжести и в разные периоды местной холодовой травмы: в позднем реактивном периоде (5 сутки), который соответствует дооперационному периоду; а также в периоде гранулирования и эпителизации (30 сутки), который соответствует послеоперационному периоду. Уровень пораженных низкими температурами тканей

также отличался. Из числа включенных в исследование пациентов сформировано три группы в зависимости от массива пораженных холодом тканей: 1 группа – поражение на уровне пальцев, 2 группа – поражение на уровне плюсны, 3 группа – поражение более проксимальных сегментов конечностей.

В работе с людьми соблюдались этические принципы, предъявляемые статьей 24 Конституции РФ и Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964). Пациенты находились на стационарном лечении в Краевом ожоговом центре ГУЗ «Городской клиническая больница №1» г. Читы в период с 2018 по 2020 гг.

Исследование одобрено решением локального этического комитета ФГБОУ ВО ЧГМА № 92 от 29 октября 2018 года. Объектом исследования являлись: здоровые люди и пострадавшие с местной холодовой травмой, а также их центрифугированная кровь.

Возраст пострадавших находился в пределах от 25 до 45 лет. Группа контроля сформирована из 50 относительно здоровых доноров аналогичной возрастной категории.

Критерии исключения: наличие окклюзирующих заболеваний артерий, варикозного расширения вен, гипертонической болезни, бронхиальной астмы, сахарного диабета, воспалительных процессов иного генеза полипатий.

Методики исследования

Методика исследования микроциркуляции

Метод лазерной допплеровской флоуметрии (ЛДФ) (Laser Doppler Perfusion) - основан на использовании зондирования тканей лазерным излучением с известной длиной волны. Нами использован лазерный анализатор микроциркуляции ЛАКК – 02 (ООО научно-производственное предприятие «ЛАЗМА», № о21524: 29/03020703/5555-03). Базовыми параметрами являются показатель микроциркуляции (ПМ), показатель шунтирования (ПШ) и амплитуда колебаний в нейрогенном диапазоне (А(н)).

Методика исследования периферической иннервации

Электронейромиография (ЭНМГ) – это комплекс нейрофизиологических методов исследования, используемых в диагностике заболеваний и приобретенных патологических состояний периферической нервной системы: болезней двигательных нейронов, корешков, сплетений, периферических нервов, нервно-мышечных синапсов и мышц, а также экзогенных повреждений нейронов любой этиологии. Метод основан на исследовании нейроассоциированных биоэлектрических потенциалах, возникающих в скелетных мышцах человека при возбуждении мышечных волокон с регистрация электрической активности мышц в следствии возбуждения и генерации импульса в нервных волокнах. Нами

использован аппарат Нейро-ВМП компании Нейрософт (г. Иваново) (ООО «Нейрософт, № ФСР 2011/12846). ЭНМГ включает в себя основные методики: спонтанную электронейромиографию и стимуляционную электронейромиографию

Исследование содержания в крови десквамированных клеток эндотелия (ЦЭК)

Количество десквамированных эндотелиоцитов в крови определялось методом Hladovec (1978). Метод основан на изоляции клеток вместе с тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов с помощью АДФ. С этой целью использовали свежую цитратную кровь.

Определение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА)

Оценка феномена лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии осуществлялось по оригинальному методу профессора Ю.А. Витковского (1999 г.)

Исследование содержания молекул межклеточной адгезии (CD40L, s-Sel, e-Sel), асимметричного диметиларгинина (ADMA), периферического нейрофиламента (pNF-H)

Уровень CD40L, s-Sel, e-Sel, ADMA, pNF-H в крови больных и жидкости пузырей устанавливался методом твердофазного ИФА с использованием наборов реагентов фирмы «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Измерение их уровня осуществляли в соответствии с инструкцией фирмы производителя.

Изучение содержания сывороточного кальпротектина (MPR8/14), молекул межклеточной адгезии (ICAM – 1, VCAM – 1), миелопероксидазы (MPO), матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов (MMP – 2, MMP – 9, TIMP – 1, TIMP – 2)

Содержание сывороточного кальпротектина, молекул межклеточной адгезии, миелопероксидазы, матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов изучали с помощью диагностического планшета LEGENDplex™ фирмы BioLegend (San-Diego, CA92121, USA, 2019).

Исследование содержания вазоактивных молекул эндотелиального генеза

Определение нитритов крови осуществлялось непрямым методом (Голиков П.П. и соавт., 2004).

Статистическая обработка материала

При проведении статистического анализа автор руководствовался принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Учитывая численность исследуемых групп, оценка нормальности распределения количественных признаков проводилась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Учитывая распределение данных отличное от нормального, результаты исследования представлены в виде медианы, первого и третьего

квартилей Me (Q_1; Q_3). Ранговый анализ вариаций по Краскелу-Уоллису (H) выполняли для сравнения трех и более независимых групп по одному количественному признаку. Затем, при наличии статистически значимых различий проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни (U) с поправкой Бонферрони. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных исследования проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона, позволяющего оценить значимость между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы. Во всех случаях $p < 0,05$ считали статистически значимым. Основываясь на отсутствии нормального распределения, для оценки связи между двумя количественными показателями использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ). Исходя из полученного значения ρ, выявлена теснота связи по шкале Чеддока и ее направление (прямая или обратная). Для построения моделей использовали регрессионный анализ. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование состояния микроциркуляции, сосудистого тонуса и биоэлектрической активности мышц в разные периоды местной холодовой травмы нижних конечностей

Патологические изменения в тканях при отморожениях имеют стадийный, прогрессирующий характер. Актуальным является соотнесение данных проявлений с динамикой изменений микрокровотока и иннервации.

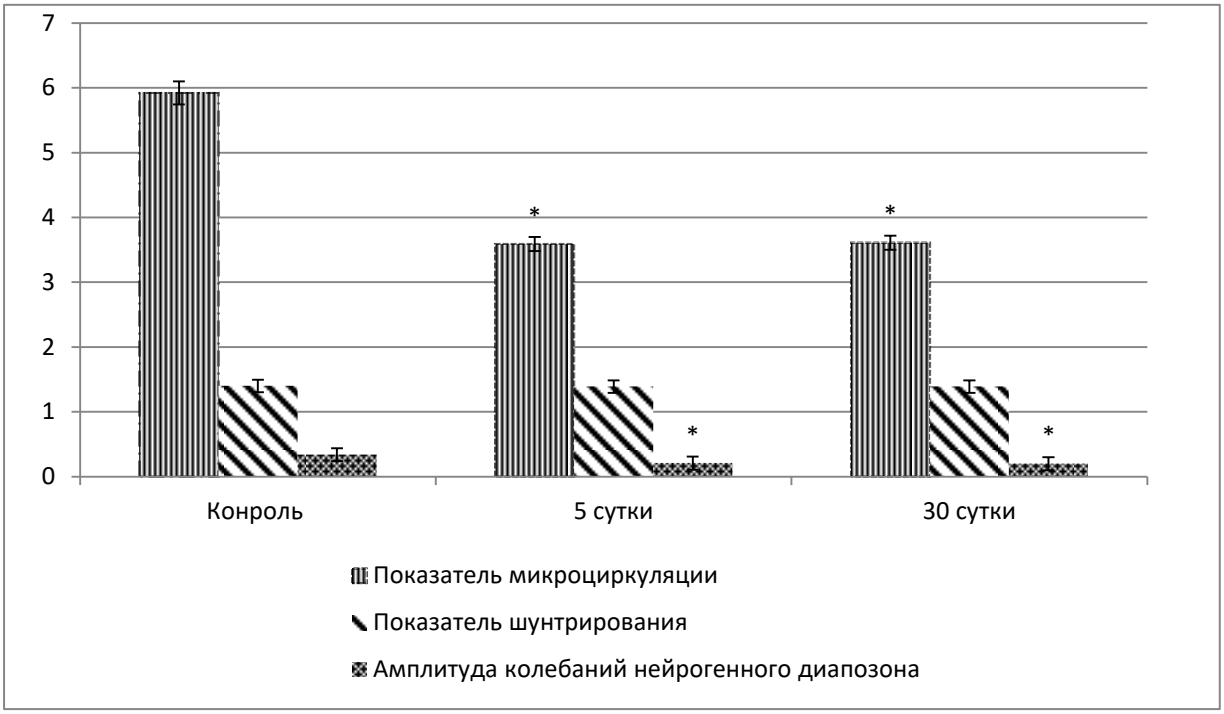
При анализе результатов осцилляций кровотока у пациентов с местной холодовой травмой нижних конечностей на 5 и 30 сутки с момента криотравмы отмечена достоверная разница между показателями группы больных с местной холодовой травмой и контролем, что можно объяснить разнонаправленностью изменений флюктуаций кровотока в различные периоды течения местной холодовой травмы. Таким образом, выделение периодов отморожений не является формальным и временным, а обусловлено патофизиологическими изменениями в поврежденных и здоровых тканях (рис. 1).

В позднем реактивном периоде холодовой травмы на стопе и голени регистрировалось снижение ПМ в 1,6 раза ($p<0,05$). Максимальная амплитуда спектра колебаний кровотока на коже голени значительно снижалась, так, А(н) уменьшалась в 1,6 раза ($p<0,05$) В периоде гранулирования и эпителизации отмечено снижение показателя ПМ в 1,7 раза ($p<0,05$). Максимальная амплитуда

спектра колебаний кровотока в области пораженной конечности в нейрогенном диапазоне снижалась в 1,8 раза (p<0,05) (рис. 1).

Рисунок 1.

ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ТОНУСА СОСУДОВ КОЖИ ГОЛЕНИ ПРИ ОТМОРОЖЕНИЯХ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ (Me [Q1; Q3]).



Примечание:

* - достоверность разницы относительно контроля;

** - достоверность разницы показателей относительно больных с отморожениями в позднем реактивном периоде.

Таблица 1.

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНМГ У ПАЦИЕНТОВ С МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМОЙ (Me [Q1; Q3])

Показатели	Амплитуда М-ответ (мВ)	Резидуальная латентность (мС)	Скорость распространени возбуждения (мС)
Контроль, n=50	3,5 [3,37; 3,67]	3,2 [3,13; 3,32]	42,6 [41,69; 43,45]
Больные ПРП, n=93 (5 сутки)	0,74±0,2 [0,72; 0,76] (p<0,001)	5,5 [5,35; 5,62] (p<0,001)	27,25 [25,98; 28,52] (p<0,001)
Больные ПГЭ, n=95 (30 сутки)	1,93 [1,78; 2,08] (p=0,003) (p_1=0,002)	4,6 [4,43; 4,74] (p<0,001) (p_1=0,039)	34,65 [32,83; 36,47] (p=0,067) (p_1<0,001)

Примечание:

p – достоверность разницы показателей относительно контроля;

p_1 – достоверность разницы показателей относительно больных с отморожениями в позднем реактивном периоде.

В позднем реактивном периоде в исследуемой группе амплитуда М-ответа (аМо) и скорость распространения возбуждения (СРВ) снижались относительно контроля. Резидуальная латентность (РЛ) повышалась относительно контрольной группы. Причем в позднем реактивном периоде аМо снижалась в 5 раз ($p<0,01$), СРВ – в 1,6 раза ($p<0,01$), РЛ повышалась в 1,7 раза ($p<0,01$) относительно группы контроля (табл. 1). Нарушение функции мышечной проводимости опосредуется и деятельностью нервной ткани. За счет длительного поступления афферентной импульсации из зоны повреждения формируется патологическая петля с пролонгированным спазмом сосудов тканей проксимальнее линии демаркации.

В периоде гранулирования и эпителизации установлено, что аМо регистрировалась на уровне в 1,8 раза ($p=0,002$), а РЛ выше в 1,2 раза ($p<0,001$) относительно группы контроля (табл. 1). СРВ достоверно не отличалась от показателей группы контроля. Исследуемые показатели ЭНМГ имели тенденцию к восстановлению по сравнению с данными позднего реактивного периода, но, по-прежнему, отличались от уровня здоровых людей.

Таким образом, динамика показателей микрокровотока, сосудистого тонуса и биоэлектрической активности мышц у больных с отморожениями нижних конечностей зависела от периода местной холодовой травмы.

Исследование состояния микроциркуляции, сосудистого тонуса и биоэлектрической активности мышц при различной тяжести местной холодовой травмы нижних конечностей

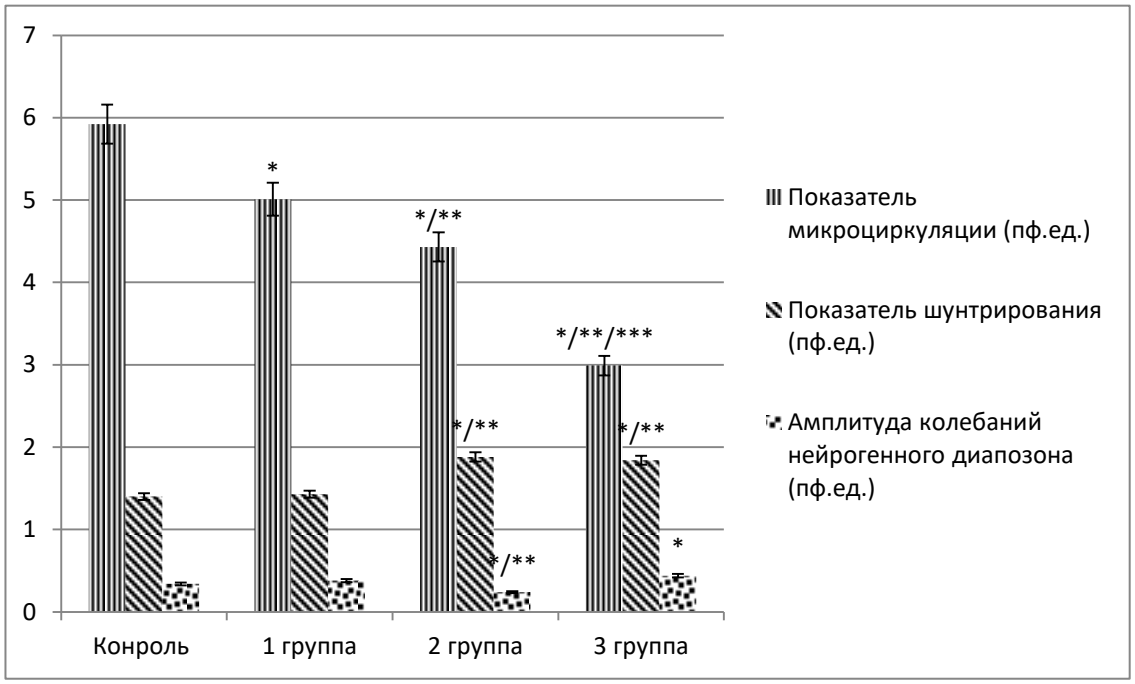
Выдвинута гипотеза об усугублении изменений состояния микроциркуляции и биоэлектрической активности мышц в зависимости от тяжести холодовой травмы конечностей.

В исследуемых группах больных с отморожениями нижних конечностей зарегистрировано уменьшение ПМ в коже средней трети голени. Эти изменения прогрессируют с усугублением тяжести травмы, так в 1-й группе пациентов разница недостоверна, во 2-й группе ПМ снижается в 1,5 раза ($p<0,05$), а в 3-й группе - в 1,7 раза ($p<0,05$). Показатель шунтирования во всех трех группах сравнения достоверно не изменялся относительно контроля. Амплитуда колебаний кровотока нейрогенного диапазона у пациентов с отморожениями пальцев достоверно снижалась в 1,5 раза ($p<0,05$) только у пациентов с самыми тяжелыми поражениями нижних конечностей (рис. 2).

Динамика изменения компонентов тонуса сосудов, параметров микроциркуляции и биоэлектрической активности мышц при местной холодовой травме нижних конечностей, весьма вероятно, являются факторами, которые приводят к неблагоприятному течению раневого процесса. В связи с чем многим

пациентам приходится выполнять повторные некрэктомии и ампутации, а приживление кожных трансплантатов происходит гораздо хуже.

Рисунок 2.



Примечание:

* – достоверность разницы показателей относительно контроля;

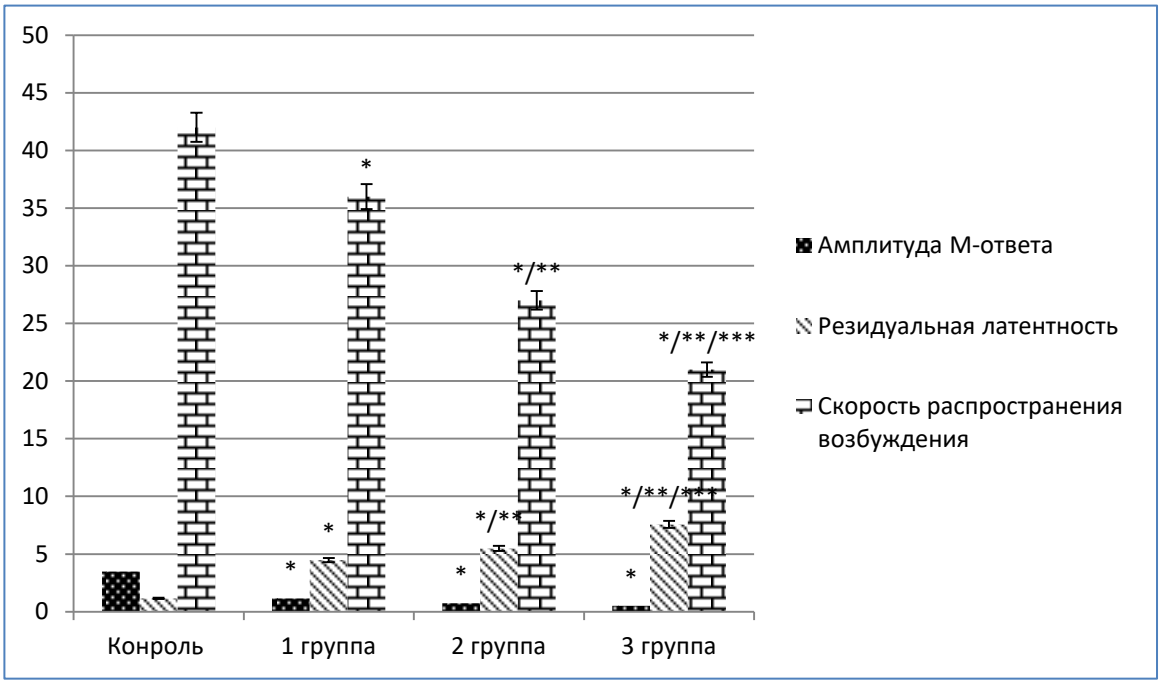
** – достоверность разницы показателей относительно 1-й группы больных;

*** – достоверность разницы показателей относительно 2-й группы больных.

У пострадавших с местной криотравмой отмечены выраженные изменения периферической иннервации. Нейропатия прогрессирует с увеличением уровня повреждения. Динамика схожа с изменениями показателей ЛДФ. Амплитуда моторного ответа у пациентов 1-й группы снижалась в 3 раза ($p<0,001$), у больных 2-й группы – в 4,8 раза ($p<0,001$), у пострадавших 3-й группы – в 7 раз ($p<0,001$). Резидуальная латентность у пациентов 1-й группы повышалась в 1,4 раза ($p<0,001$), у больных 2-й группы – в 1,7 раза ($p<0,001$), у пострадавших 3-й группы – в 2,4 раза ($p<0,001$). Скорость распространения возбуждения у пациентов 1-й группы снижалась в 1,2 раза ($p<0,001$), у больных 2-й группы – в 1,6 раза ($p<0,001$), у пострадавших 3-й группы – в 2 раза ($p<0,001$) (рис. 3).

Рисунок 3.

ПОКАЗАТЕЛИ ЭНМГ У ПАЦИЕНТОВ
С МЕСТНОЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМОЙ (ME [Q1; Q3])



Примечание:

* – достоверность разницы показателей относительно контроля;

** – достоверность разницы показателей относительно 1-й группы больных;

*** – достоверность разницы показателей относительно 2-й группы больных.

Таким образом, при усугублении тяжести местной холодовой травмы изменения показателей микроциркуляции и сосудистого тонуса становятся более выраженными.

Использование ЭНМГ для прогнозирования уровня повреждения тканей при местной холодовой травме III–IV степени дистальных сегментов нижних конечностей

Для повышения точности и упрощения способа прогнозирования уровня повреждения при местной холодовой травме III–IV степени дистальных сегментов нижних конечностей проводят электронейромиографию пораженной конечности, определяют амплитуду М-ответа (AMR (amplitude of M-response)), скорость распространения возбуждения (SEP (speed of excitation's propagation)), резидуальную латентность (RL (residual latency)) и рассчитывают коэффициент уровня повреждения по формуле: $K = 1,5 – 0,04 \times SEP – 0,15 \times AMR + 0,355 \times RL$, где: SEP - скорость распространения возбуждения, AMR - амплитуда М-ответа, RL - резидуальная латентность; 1,5 – константа уравнения линейной регрессии; 0,04, 0,15, 0,355 – коэффициенты уравнения линейной регрессии, при значении К менее 2 прогнозируют отморожение на уровне пальцев стопы, при К от 2 до 3 – на уровне предплюсно-плюсневого сочленения, при К более 3 – тотальное поражение стопы.

Местная холодовая травма сопровождается деградацией периферических нервов, поэтому в качестве прогностических критериев выбраны показатели электронейромиографии. Максимальная корреляция наблюдалась между уровнями поражения тканей и показателями электронейромиографии (r = 0,97).

Способ осуществляют следующим образом: пациентам с местной холодовой травмой III – IV степени дистальных сегментов нижних конечностей при поступлении в стационар проводят накожную стимуляционную электронейромиографию пораженной конечности импульсным переменным током в диапазоне 10-35 мА, продолжительностью 200-300 мС с помощью аппарата Нейро-ВМП, компании Нейрософт (г. Иваново).

Определяют показатели ЭНМГ: амплитуду М-ответа (AMR (amplitude of M-response)) (мВ), резидуальную латентность (RL (residual latency)) (мС) и скорость распространения возбуждения (SEP (speed of excitation's propagation)) (мС). Рассчитывают коэффициент уровня повреждения по формуле: $K = 1,5 – 0,04 \times SEP – 0,15 \times AMR + 0,355 \times RL$; где: SEP - скорость распространения возбуждения, AMR - амплитуда М-ответа, RL - резидуальная латентность; 1,5 – константа уравнения линейной регрессии; 0,04, 0,15, 0,355 – коэффициенты уравнения линейной регрессии, при значении К менее 2 прогнозируют отморожение на уровне пальцев стопы, при К от 2 до 3 – на уровне предплюсно-плюсневого сочленения, при К более 3 – тотальное поражение стопы.

Данный способ использован для прогнозирования уровня поражения при местной холодовой травме нижних конечностей у 135 пациентов. Результаты представлены в таблице 2. Эффективность способа прогнозирования уровня поражения при местной холодовой травме III–IV степени дистальных отделов нижних конечностей составляет 91%

Таблица 2.

Уровень поражения при местной холодовой травме III–IV степени дистальных сегментов нижних конечностей (Me [Q1; Q3])

Кол-во больных (n)	Возраст, лет	AMR (мВ)	SEP (мС)	RL (мС)	Коэффициент К	Уровень повреждения
41	40,5 [36,3; 45,1]	1,16 [1,02; 1,23]	36,68 [33,4; 41,3]	4,48 [3,99; 4,9]	1,3 [1,01; 1,5]	поражение на уровне пальцев стопы
45	40,3 [32,3; 43,1]	0,74 [0,5; 0,91]	27,25 [22,1; 29,3]	5,48 [4,99; 6,01]	2,6 [2,3;2,9]	поражение до уровня средней трети стопы
49	37 [34,3; 43;1]	0,53 [0,46; 0,59]	21,36 [19,7; 23,1]	7,56 [7,01; 7,99]	3,8 [3,3; 4,1]	тотальное поражение стопы

Использование ЭНМГ для прогнозирования развития осложнений в послеоперационном периоде при местной холодовой травме нижних конечностей

Известно, что в начальном периоде отморожения определить уровень повреждения тканей не представляется возможным. Отсутствие зоны демаркации создает определенные сложности в определении объема проводимой терапии и прогнозе дальнейшего течения повреждения.

Для упрощения и повышения точности способа прогнозирования развития осложнений в послеоперационном периоде при местной холодовой травме III – IV степени дистальных сегментов нижних конечностей проводят стимуляционную электронейромиографию пораженной конечности, определяют амплитуду М-ответа, рассчитывают коэффициент развития осложнений по формуле: $K = 1{,}7 \times AMA - 0{,}65$, где: AMA – амплитуда М-ответа (мВ), 0,65 - константа уравнения линейной регрессии, 1,7 - коэффициент уравнения линейной регрессии, и при значении коэффициента К менее 1,0 прогнозируют осложненное течение раневого процесса в послеоперационном периоде.

Данный способ использован для прогнозирования осложненного течения раневого процесса в послеоперационном периоде при местной холодовой травме нижних конечностей у 40 пациентов. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3.

Послеоперационные осложнения при местной холодовой травме III–IV степени дистальных сегментов нижних конечностей (M±SD)

Кол-во больных (n)	Возраст, лет (M±м)	Амп. М-ответа (мВ) (M±м)	Вид осложнений	
			Вторичный некроз	Нагноение послеоперационной раны
Пациенты с применением метода прогнозирования (n=21)	40,5±8,4	1,04±0,03	1 (1,5%)	1 (1,5%)
Группа контроля (n=19)	40±8,3	0,4±0,02	15 (79%)	2 (10,5%)

Эффективность предложенного способа прогнозирования развития осложнений в послеоперационном периоде при местной холодовой травме III–IV степени дистальных отделов нижних конечностей составляет 91%.

Программа ЭВМ для ранней диагностики уровня поражения мягких тканей дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III–IV степени

На основе оценки феномена лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и значений амплитуды моторного ответа создана программа, которая предназначена

для ранней диагностики уровня поражения мягких тканей дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III –IV степени. Набор действий создается в специальном режиме работы пользовательского окна, в котором пользователь получает доступ к вводу данных о проценте (PA) и степени (DA) адгезии, определенных на 5 сутки от момента холодовой травмы с помощью оригинального метода оценки феномена лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии Ю.А. Витковского и соавт. (1999), а также вводу значения амплитуды М-ответа (AMR), определенного на 5 сутки от момента холодовой травмы путем электронейромиографии пораженной конечности по стандартной методике. Вывод результата также осуществляется в проекции пользовательского окна, включает определение уровня поражения мягких тканей дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III – IV степени (на уровне пальцев, дистального отдела стопы, проксимального отдела стопы, нижней трети голени, средней трети голени).

Программа носит прикладной характер, обеспечивает возможность ранней диагностики уровня поражения мягких тканей дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III – IV степени, что позволяет не только в полной мере проинформировать пациента, но и оптимизировать тактику их ведения.

Исследование содержания матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов у пациентов с местной холодовой травмой

Обращает на себя внимание повышение уровня ММР–2 и ММР–9 в сыворотке крови у пациентов с МХТ относительно группы контроля в ранние сроки отморожения (табл. 4). В поздние сроки с момента травмы уровень ММР–2 снизился до значений контрольной группы, а показатели ММР–9 оставались значительно выше нормы. Данный факт патогенетически обосновывает большое количество осложнений течения раневого процесса у пациентов с МХТ.

В позднем реактивном периоде у пострадавших с криоповреждением уровень ММР–2 в сыворотке крови в 3,4 раза больше относительно контроля ($p=0,011$), на 30 сутки – значения ММР–2 не отличаются показателей контроля ($p=0,103$). Уровень ММР–9 у пострадавших с местной холодовой травмой на 5 сутки в 14,5 раз больше показателей контроля ($p=0,002$), на 30 сутки – в 12,5 раз выше относительно группы здоровых добровольцев ($p<0,001$) (табл. 4).

В позднем реактивном периоде у пациентов с криоповреждением уровень TIMP–1 в 1,7 раза выше относительно контроля ($p<0,001$), на 30 сутки – значения TIMP–1 увеличилось в 2 раза относительно контроля ($p<0,001$). Уровень TIMP-2 у пациентов на 5 сутки с момента криоповреждения в 2,3 раза больше показателей

контроля (p<0,001), на 30 сутки – в 2,2 раз больше относительно группы контроля (p<0,001) (табл. 4).

Таблица 4.

Содержание матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови у пострадавших с местной холодовой травмой в разные периоды криоповреждения (Me [Q1; Q3])

	MMP–2 (ng/ml)	MMP–9 (ng/ml)	TIMP–1 (ng/ml)	TIMP–2 (ng/ml)
Контроль (n = 50)	2,3 [2,16; 2,45]	32,00 [28,55; 35,37]	734,4 [733,51; 770,20]	247,2 [232,19; 257,81]
Больные ПРП, n=93 (5 сутки)	7,97 [7,59; 8,20] p < 0,001	448,86 [418,33; 466,28] p < 0,001	1259,2 [1230,83; 1342,35] p < 0,001	555,2 [528,46; 578,94] p < 0,001
Больные ПГЭ, n=95 (30 сутки)	4,53 [4,27; 4,92] p < 0,001 p_1<0,001	354,14 [343,65; 375,35] p < 0,001 p_1< 0,001	1481,6 [1462,76; 1646,89] p < 0,001 p_1 < 0,001	478,4 [472,6; 555,55] p < 0,001 p_1=0,024

Примечание:

p – достоверность разницы показателей относительно контроля;

p_1 – достоверность разницы показателей относительно больных с отморожениями в позднем реактивном периоде.

Нами выявлено резкое повышение ингибиторов матриксных металлопротеиназ (TIMP–1 и TIMP–2) во всех периодах криоповреждения. Также необходимо указать и на то, что уровень TIMP не снижается и на 30 сутки с момента криоповреждения. Данный феномен, вероятно, связан с гибелью костной ткани, так как ингибиторы матриксных металлопротеиназ депонируются в основном в остеоцитах.

У пациентов с криоповреждением дистальных отделов стоп уровень MMP–2 в 2,1 раза выше относительно контроля (p<0,001), у пациентов с отморожениями более проксимальных сегментов стопы – значение MMP–2 в 2,6 раза выше контрольных показателей (p<0,001). Уровень MMP–2 у пострадавших с самыми тяжелыми отморожения в 3,5 раза выше контрольных значений (p<0,001). Уровень MMP–9 у пострадавших с отморожением пальцев стоп в 4,9 раза выше показателей контроля (p<0,001), а у пациентов с более тяжелыми отморожениями – в 10 раз выше относительно группы контроля (p<0,001). У больных с отморожениями 3-й группы уровень MMP–9 увеличился в 14,5 раз относительно значений контроля (p<0,001).

У пациентов с криоповреждением дистальных отделов стоп уровень TIMP–1 в крови в 2 раза выше относительно контроля (p<0,001), у пациентов с отморожениями более проксимальных сегментов стопы – значение TIMP–1 в 1,8 раза выше контрольных показателей (p<0,001). Уровень TIMP–1 у пострадавших с самыми тяжелыми отморожениями в 1,6 раза выше контрольных значений (p<0,001). Уровень TIMP-2 у пострадавших с местной холодовой травмой пальцев

стоп в 2,1 раза выше показателей контроля (p<0,001), у пациентов с более тяжелыми отморожениями – в 2,2 раз выше относительно группы контроля (p<0,001). У больных с отморожениями 3-й группы уровень TIMP-2 в 2,3 раза превышает значения контроля (p<0,001).

Полученные в ходе исследования данные указывают на повышение содержания матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов сыворотке крови у пострадавших холодовой травмой. При этом значимой динамики исследуемых маркеров не происходит и в отдаленные сроки криоповреждения. Вероятно, при отморожениях реализуется значительный сбой в ремоделировании цитоскелета, репарации тканей, ангиогенеза, имеются предпосылки к затяжному течению репаративных процессов и ухудшению результатов хирургического лечения.

Сывороточный кальпротектин и активность межклеточных взаимодействий при местной холодовой травме

Выявление новых маркеров криоповреждения способствует более ранней диагностике глубины поражений тканей, созданию новых подходов к хирургическому лечению глубоких отморожений конечностей и ускоренной реабилитации пострадавших.

У пациентов с местной холодовой травмой на 5 сутки установлено снижение уровня NO в крови в 1,5 раза (p<0,0001). При этом и на 30 сутки с момента криоповреждения уровень NO в крови меньше в 2,5 раза (p<0,0001) относительно контрольной группы. У пациентов с местной холодовой травмой на 5 сутки отмечено значительное снижение уровня ADMA в системном кровотоке в 4,5 раза (p=0,001). При этом и на 30 сутки с момента криоповреждения уровень ADMA не изменялся относительно контрольной группы. У пациентов с местной холодовой травмой на 5 сутки установлено увеличение в крови уровня ЦЭК в 5,2 раза (p<0,0001). При этом на 30 сутки с момента криоповреждения содержание ЦЭК уменьшалось, но, по-прежнему, оставалось выше значения контроля в 1,9 раза (p<0,0001) (табл. 5).

У пострадавших с отморожением дистальных сегментов стоп содержание NO в крови уменьшилась в 1,7 раза (p<0,0001) относительно контроля. У больных с поражением более проксимальных сегментов нижних конечностей показатель NO снизился в 2,3 раза (p<0,0001) относительно здоровых добровольцев. У пациентов с самыми тяжелыми отморожениями нижних конечностей уровень NO в крови снизился в 2,9 раза (p<0,0001).

Таблица 5.

Динамика концентрации вазоактивных молекул и уровня ЦЭК у пострадавших в разные периоды криотравмы(Me [Q1; Q3])

Показатель	Контроль, n=50	Больные ПРП, n=93 (5 сутки)	Больные ПГЭ, n=95 (30 сутки)
NO (мкмоль/л)	4,10 [4,00; 4,20]	2,15 [2,00; 2,30] p<0,0001	1,52 [1,40; 1,70] p<0,0001 p_1=0,037276
ADMA (ng/ml)	181,49 [150,65; 205,45]	40,94 [30,02; 48,46] p=0,001420	85,98 [69,39; 95,81] p=0,050953 p_1=0,197047
ЦЭК, $\times 10^4$/л	2,15 [2,00; 2,30]	13,10 [12,30; 14,00] p<0,0001	4,54 [4,20; 4,90] p<0,0001 p_1<0,0001

Примечание:

p – достоверность разницы показателей относительно контроля;

p_1 – достоверность разницы показателей относительно предыдущего периода.

У пострадавших с отморожением дистальных сегментов стоп уровень в крови ADMA не отклонялся относительно контроля. У больных с поражением более проксимальных сегментов нижних конечностей показатель ADMA статистически не отличался (p=0,08) относительно здоровых добровольцев. У пациентов с самыми тяжелыми отморожениями нижних конечностей уровень ADMA в крови снижался в 3,6 раза (p=0,002). У пострадавших с отморожением дистальных сегментов стоп содержание ЦЭК в крови увеличилось в 2,7 раза (p<0,0001) относительно контроля. У больных с поражением более проксимальных сегментов нижних конечностей показатель ЦЭК увеличивался в 6,7 раза (p<0,0001) относительно здоровых добровольцев. У пациентов с самыми тяжелыми отморожениями нижних конечностей уровень ЦЭК в крови повышался в 9 раз (p<0,0001).

Увеличение объема поврежденных тканей провоцирует значительное повреждение сосудистой стенки, гибель эндотелиоцитов и обнажение субэндотелиального матрикса.

Сывороточный кальпротектин и феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии при местной холодовой травме

В настоящее время сывороточный кальпротектин рассматривается как потенциальный острофазный маркер при многих воспалительных и аутоиммунных заболеваниях. Получены данные, подтверждающие важную роль MRP8/14 при артрите, ожирении, сахарном диабете 2-го типа, сердечно-сосудистых катастрофах и ряде других заболеваний. Однако, в современной литературе отсутствуют исследования данного биомаркера у пациентов с МХТ, в связи с этим изучение его

метаболизма способствует расширению представлений о патогенезе криоповреждения.

В позднем реактивном периоде у пострадавших с местной холодовой травмой уровень кальпротектина в сыворотке крови в 4,6 раза выше относительно группы контроля (p = 0,001), на 30 сутки криоповреждения – значение кальпротектина в 4,5 раза превосходило контрольные показатели (p = 0,001).

Таблица 6.

Содержание кальпротектина в сыворотке крови и лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у пострадавших с местной холодовой травмой в разные периоды криоповреждения (Me [Q1; Q3])

Исследуемые группы	L1-протеин (ng/ml)	Процент ЛТА	Степень ЛТА
Контроль (n = 50)	184,69 [174,42; 217,53]	14,00 [12,92; 14,53]	2,03 [1,99; 2,02]
Больные ПРП, n=93 (5 сутки)	870,45 [858,57; 924,49] p = 0,001	18,03 [14,89; 19,22] p = 0,021	2,97 [2,59; 3,43] p = 0,018
Больные ПГЭ, n=95 (30 сутки)	864,59 [802,88; 997,59] p = 0,001 p_1 = 0,752	17,21 [16,59; 17,89] p = 0,019 p_1 = 0,6	3,41 [2,92; 3,82] p = 0,015 p_1 = 0,46

Примечание:

p – достоверность разницы показателей относительно контроля;

p_1 – достоверность разницы показателей относительно значений на 5-е сутки с момента криоповреждения.

У пациентов в позднем реактивном периоде местной холодовой травмы процент ЛТА относительно контроля повышался в 1,3 раза (p = 0,021), причем степень адгезии возрастала в 1,5 раза (p = 0,018). В периоде гранулирования и эпителизации у пострадавших с криотравмой процент адгезии относительно контроля больше в 1,2 раза (p = 0,019), а степень адгезии – в 1,7 раза (p = 0,015) (табл. 6).

У больных с отморожениями только пальцев конечностей процент ЛТА повышался в 1,3 раза (p = 0,021), а степень адгезии – в 1,5 раза (p = 0,018).

Установлено, что у пациентов 2-й группы относительно контроля способность тромбоцитов к адгезии с лимфоцитами возрастала в 1,6 раза (p <0,001), причем среднее число пластинок, которые участвовали в розеткообразовании, увеличивалось в 2,1 раза (p <0,001). Кроме того, по сравнению с показателями пострадавших с минимальным объемом пораженных низкими температурами тканей, процент ЛТА повышался в 1,2 раза (p_1 = 0,019), а степень адгезии возрастала в 1,4 раза (p_1 = 0,015).

У больных с максимальным объемом поражения тканей холодом по сравнению с контрольными значениями способность лимфоцитов и пластинок к адгезии увеличивалась в 3 раза (p <0,001), а степень адгезии – в 3,5 раза (p <0,001). Относительно пациентов с минимальной тяжестью отморожения процент ЛТА

повышался в 2,3 раза (p_1 <0,001), а среднее число пластинок, участвовавших в розеткообразовании, увеличивалось в 2,3 раза (p_1 <0,001). Наконец, по сравнению с параметрами больных 2-й группы способность лимфоцитов к адгезии с тромбоцитами возрастала в 1,8 раза (p_2 <0,001), а степень адгезии – в 1,7 раза (p_2 < 0,001).

Таким образом, у пациентов с местной холодовой травмой отмечено резкое повышение уровня сывороточного кальпротектина и лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов во всех исследуемых группах и в динамике. Неблагоприятным фактором является то, что в крови определяются коагрегаты с 4-6 тромбоцитами, которые, вне всякого сомнения, усугубляют ишемию тканей зоны повреждения и создает неблагоприятные предпосылки для течения послеоперационного периода.

Содержание молекул межклеточной адгезии и асимметричного диметиларгинина в разные периоды криоповреждения

У пациентов с местной холодовой травмой на 5 сутки в сыворотке крови по сравнению с группой контроля значительно повысились концентрации CD40L в 14,8 раз (p=0,001), sE-Sel в 7,6 раза (p=0,009), sP-Sel в 13,6 раза (p=0,003), ICAM-1 в 22,6 раза (p<0,0001), VCAM–1 в 1,9 раза (p=0,111), и при этом снизился уровень ADMA в 4,5 раза (p=0,001).

На 30-е сутки с момента отморожения величины большинства адгезивных молекул оставались значительно выше контрольных значений: значения CD40L превышали в 12,7 раза (p=0,009), уровень sE-Sel – в 7,6 раза (p=0,012), количество sP-Sel – в 15,3 раза (p=0,001), содержание ICAM-1 – в 6,3 раза (p=0,015). Однако концентрация VCAM–1 не отличалась от контроля, а уровень ADMA уменьшился в 2,1 раза (p=0,051) относительно контрольных значений.

Максимальное содержание адгезивных молекул у пострадавших наблюдается на 5 сутки и у пациентов с самыми тяжелыми отморожения. На 30 сутки уровень исследуемых параметров превышает значения контроля. Не исключено, что молекулы адгезии у пострадавших реализуют своего рода компенсаторный механизм, который способствует обеспечению точной настройки миграции лейкоцитов сквозь эндотелий при воспалении и последовательное прибытие в очаг различных клеточных популяций.

Сниженный уровень ADMA, вероятно, связан с включающимися механизмами стабилизации после альтерации и попытками организма способствовать эндотелий-зависимой вазодилятации путем ингибирования инкреции одного из внутриклеточных супрессоров оксида азота. Данный факт опровергает общепринятое мнение об основополагающей роли гиперсекреции ADMA в реализации эндотелий-зависимой вазоконстрикции.

Содержание молекул межклеточной адгезии и асимметричного диметиларгинина при различной тяжести местной холодовой травмы

При исследовании изучаемых показателей у пострадавших в зависимости от масштаба криоповреждения было выявлено, что у пострадавших с отморожением дистальных сегментов стоп зафиксировано увеличение концентрации в крови большинства исследуемых маркеров. Так уровень CD40L увеличился в 2,8 раза (p=0,002), значение sE-Sel - в 4 раза (p=0,03), показатель sP-Sel - в 4,8 раза (p<0,0001), уровень ICAM-1 и значение VCAM–1 не изменились относительно контроля.

У больных с поражением всей стопы уровень CD40L в крови увеличился в 7,1 раза (p<0,0001), значение sE-Sel - в 5 раз (p<0,0001), показатель sP-Sel - в 14,2 раза (p<0,0001), уровень ICAM-1 - в 2,9 раза (p=0,02), значение VCAM–1 и уровень ADMA не изменились относительно контроля.

У пациентов с криоповреждением до уровня нижней трети голени уровень CD40L в системном кровотоке увеличился в 15,3 раза (p<0,0001), значение sE-Sel - в 8,4 раза (p<0,0001), показатель sP-Sel - в 17,9 раз (p<0,0001), уровень ICAM-1 - в 7,5 раз (p<0,0001), значение VCAM–1 – в 2,4 раза (p=0,005), а уровень ADMA снизился в 3,6 раза (p=0,006).

На основании анализа уравнения линейной регрессии, в которое были включены исходные показатели, определена значимость показателей в структуре модели прогнозирования уровня повреждения тканей при отморожении (табл. 7).

Таблица 7.

Значимость показателей молекул межклеточной адгезии и асимметричного диметиларгинина в структуре модели прогнозирования уровня повреждения тканей при отморожении (Me [Q1; Q3])

Модель	Нестандартизованные коэффициенты		Стандартизованные коэффициенты		
	B	Стандартная ошибка	Бета	т	Значимость в структуре модел
Константа	0,582	0,212		2,752	**0,007**
CD40L	0,0001	0,0001	0,218	4,226	**0,0001**
sE-Sel	0,001	0,0001	0,180	5,212	**0,0001**
sP-Sel	0,001	0,0001	0,436	9,405	**0,0001**
ICAM-1	0,017	0,009	0,080	1,831	0,07
VCAM–1	0,0001	0,001	-0,004	-0,108	0,914
ADMA	-0,003	0,001	-0,147	-2,809	**0,006**

Учитывая недостаточную значимость, показатели ICAM-1 и VCAM-1 удалены из структуры исходной модели. В результате чего путем повторной линейной регрессии определена закономерность, выражающаяся формулой: K = 0,7 + 0,0001 × CD40L + 0,002 × sE-Sel + 0,001 × sP-Sel – 0,003 × ADMA, наименование единиц

измерения показателей - ng/ml. При значениях К от 1,0 до 2,0 диагностируют отморожение пальцев стоп, при К от 2,0 до 3,4 граница поражения распространялась до предплюсно-плюсневого сочленения, более 3,4 – до уровня нижней трети голени.

Содержание миелопероксидазы у пациентов с местной холодовой травмой

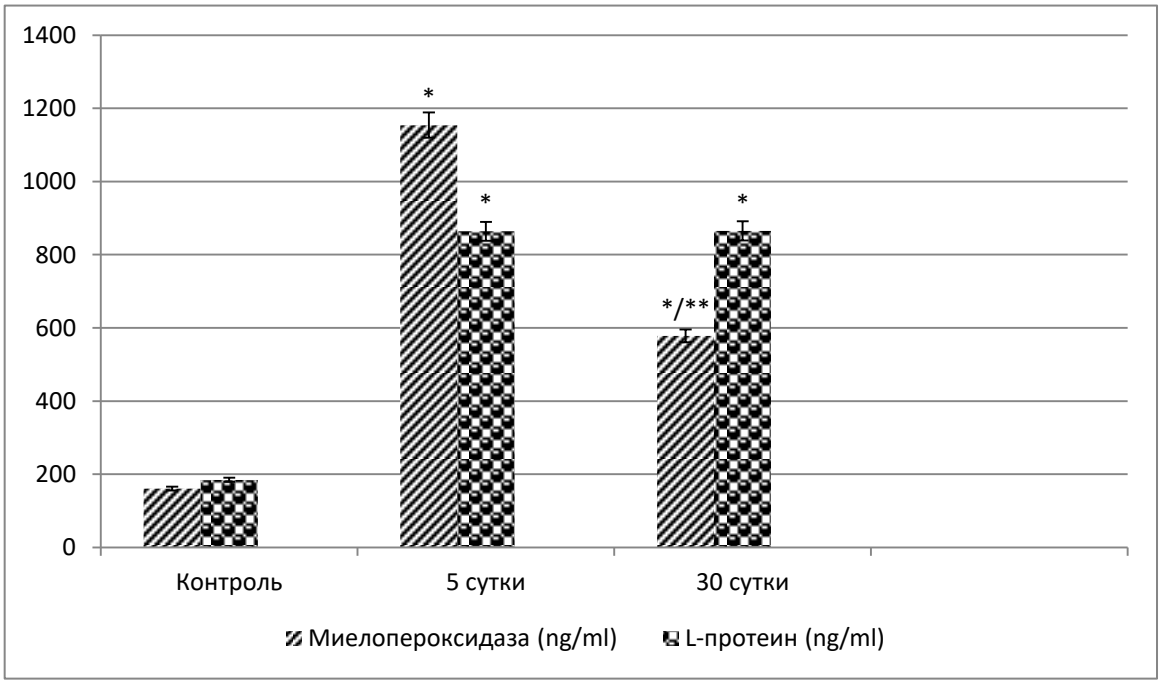
Поврежденный холодовым фактором и продуктами вторичной альтерации эндотелий, а также иммунокомпетентные клетки инкретируют огромное количество биологически активных субстанций.

Выявлено повышение уровня МРО у пациентов с МХТ относительно группы контроля в позднем реактивном периоде. В то же время, у пациентов в периоде гранулирования и эпителизации уровень МРО снизился по сравнению с показателями содержания МРО в сыворотке у пациентов на 5 сутки, однако оставался выше уровня здоровых людей.

В позднем реактивном периоде у пациентов с местной холодовой травмой уровень МРО в 7,3 раза выше относительно контроля (p=0,03), на 30 сутки – значение МРО остается повышенным в 3,6 раза (p=0,01).

Рисунок 4.

Содержание миелопероксидазы и L-протеина в крови пациентов с местной холодовой травмой (ME [Q1; Q3])



.

Примечание:

* - достоверность разницы относительно контроля;

** - достоверность разницы показателей относительно больных с отморожениями в позднем реактивном периоде.

В ходе исследований установлено, что уровень кальпротектина сыворотки крови увеличился относительно группы контроля во все периоды криоповреждения.

В позднем реактивном периоде у пострадавших с местной холодовой травмой уровень кальпротектина в сыворотке крови в 4,6 раза выше относительно группы контроля (p = 0,001), на 30 сутки криоповреждения – значение кальпротектина в 4,5 раза превосходило контрольные показатели (p = 0,001) (рис. 4).

Таким образом, у пострадавших отмечается повышение содержания MPO и L-протеина в сыворотке крови во все периоды течения глубоких отморожений, соответственно динамике раневого процесса. Повышение уровня MPO в циркулирующей крови связано с воспалением и повышенным окислительным стрессом. Возрастание уровня MPO в настоящее время трактуется как маркер плохого прогноза и неблагоприятного течения раневого процесса.

Уровень периферического нейрофиламента у больных с криоповреждением

Малоинвазивные методики оценки состояния тканей представляются перспективными в прогнозировании отдаленных результатов местной холодовой травмы, а лабораторные данные периферической нейродеструкции, в частности, уровень фосфорилированного нейрофиламента H (pNF-H), позволяют комплексно оценить объем аксонального повреждения у пострадавших.

Таблица 8.

Показатели pNF-H у пациентов с местной холодовой травмой (ME [Q1; Q3])

Показатели	pNF-H (ng/ml)
Контроль, n=50	57,46 [42,0; 73,14]
Больные ПРП, n=93 (5 сутки)	815,7 [546,3; 1085,7] (p<0,001)
Больные ПГЭ, n=95 (30 сутки)	573,01 [402,1; 637,05] (p<0,001) (p_1<0,001)

Примечание:

p – достоверность разницы показателей относительно контроля;

p_1 – достоверность разницы показателей относительно больных с отморожениями в позднем реактивном периоде.

В позднем реактивном периоде в исследуемой группе уровень pNF-H в крови повышался в 14,5 раз относительно показателей контроля (p<0,001) (табл. 8). Подобное явление связано как со стойкой периферической нейродеструкцией, продолжающемся повреждением тканей, так и с истощением активных механизмов регуляции тонуса, рефрактерности гладкой мускулатуры сосудистой стенки. В периоде гранулирования и эпителизации отмечено снижение уровня pNF-H в 1,5 раза по сравнению с поздним реактивным периодом (p<0,01), но значение по-прежнему остается выше показателей контроля. Подобный факт можно объяснить

наличием участка патологической нервной импульсации и продолжающейся нейродеструкцией, наряду с восстановлением нервной ткани.

Классификация осложнений местной холодовой травмы

Существующие в настоящее время классификационные критерии отморожений основаны на этиологии, сроках и глубине холодового повреждения и не содержат признаков, определяющих наличие и характер ранних и поздних осложнений местной холодовой травмы, а также особенностей клинического течения и оперативного лечения последствий криоповреждения. Все более существенным аспектом становится справедливый расчет стоимости лечения пациентов в системе обязательного медицинского страхования.

В ходе проведения проспективного исследования установлено, что у всех пациентов с местной холодовой травмой нижних конечностей (n=32, 100%) в пораженных сегментах конечностей выявлены нарушения чувствительности, мышечная слабость, судороги, нарушение координации движений. У 4 пациентов (12,5%) выявлено отторжение трансплантата, у 5 пациентов (15,5%) обнаружено нагноение и несостоятельность швов, у 2 (6,25%) пострадавших сформировался некроз культи. Эти осложнения криотравмы мы отнесли к «ранним» (в течение 29 суток комплексного лечения). Выявленные стойкие поздние последствия местной холодовой травмы мы предлагаем обобщить в понятие «болезнь холодовой конечности».

Ретроспективно проанализированы поздние осложнения местной холодовой травмы. Из 100 пациентов с местной холодовой травмой через 30 дней у 32 (32%) пострадавших обнаружены трофические язвы культей стоп, у 28 пациентов (28%) – остеомиелит с формированием секвестров, 12 пациентов (12%) обратились в стационар гангреной культей обеих стоп.

В ходе объективного осмотра и инструментального исследования пациентов с последствиями местной холодовой травмы выявлены многочисленные изменения как со стороны пораженных сегментов конечности, так и со стороны регионарной нейрососудистой системы. Установлено, что у пострадавших в подавляющем большинстве случаев определяются снижение чувствительности, мышечная слабость, судороги, нарушения движений.

Для упрощения рубрификации осложнений выявленные изменения перенесенной местной холодовой травмы дополнительно сгруппированы с применением интегральной шкалы выявленных патологических изменений.

Корреляционные взаимосвязи уровня маркеров состояния эндотелия, периферической нервной системы и репарации при местной холодовой травме

Обнаружено, что у больных с отморожениями концентрация в крови коллагеназ и их ингибиторов коррелируют с уровнем поражения нижних конечностей. У

пациентов с местной холодовой травмой выявлена прямая сильная связь по шкале Чеддока между уровнем матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов и уровнем поражения тканей (r=0,797; r=0,907, p<0,001) . Вероятно, это связано с ремоделированием цитоскелета, репарацией тканей, ангиогенеза. При этом имеются предпосылки к нетипичному, затяжному течению репаративных процессов.

Выявлено, что уровень кальпротектина, процент лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и ее степень коррелируют с тяжестью холодовой травмы (r=0,838, r=862, r=929, p<0,0001). Повышенный уровень кальпротектина, инкретируемого лейкоцитами, является активатором межклеточных взаимодействий, что нашло свое отражение в реализации лимфоцитарно-пластиночных взаимодействий. Лимфоцитарно-тромбоцитарные кластеры создают фундамент для процессов репарации и миграции иммунокомпетентных клеток в межуточное пространство. Однако, повышение содержания сывороточного кальпротектина и формирование коагрегатов провоцируют закупорку микроциркуляторного русла, что усугубляет альтерацию в зоне паранекроза.

Между уровнем молекул межклеточной адгезии и уровнем криоповреждения наблюдалась прямая высокая корреляционная связь, а уровнем асимметричного диметиларгинина – обратная высокая корреляционная связь. Известно, что молекулы адгезии в условиях физиологии практически отсутствуют на поверхности эндотелия. Нарушением скоростных показателей кровотока и повреждение субэндотелиального матрикса является одним из основных предикторов экспрессии молекул адгезии. Начальным этапом этого процесса выступают именно растворимые формы селектинов (sE-SEL, sP-SEL и суперсемейство CAM). Поврежденный эндотелий не в состоянии в полной мере реализовать выработку NO, как следствие, у пациентов с МХТ отмечается понижение уровня ADMA, который является основным антагонистом эндотелиального оксида азота.

Холодовая альтерация провоцирует повреждение, прежде всего, самых дифференцированных тканей - эндотелия и нервной, следовательно, проведение импульса по аксонально-дендритному контакту и распространение его по иннервируемым тканям нарушается, а зачастую и прекращается совсем. Этот факт нашел в корреляционных взаимодействиях у пациентов с местной холодовой травмой, показателями ЭНМГ и уровнем периферического нейрофиламента. У больных с отморожениями выявлена прямая высокая связь (r=0,949, <0,001) между амплитудой М-ответа и периодом криоповреждения; установлена высокая обратная связь (r=0,949, <0,001) между резидуальной латентностью и периодом местной холодовой травмы; выявлена высокая прямая связь (r=0,949, <0,001) между скоростью распространения возбуждения и периодом криотравмы; установлена высокая обратная связь (r=0,949, <0,001) между периодом криоповреждения и

уровнем периферического нейрофиламента у пациентов с местной криотравмой. Формирующаяся периферическая нейропатия, вне всякого сомнения, представляет собой фундамент для затяжного и вялотекущего процесса воспаления. У большинства пациентов с местной холодовой травмой формируются трофические нарушения, остеомиелиты и гангрены поврежденного сегмента конечности при условии выполненной в срок и по показаниям некрэктомии.

Анализ комплексного лечения пациентов с местной холодовой травмой с учетом прогнозирования уровня повреждения и осложнений в послеоперационном периоде

Местная холодовая травма сопровождается высоким уровнем инвалидности и, зачастую, неудовлетворительными результатами хирургического лечения, а также повторными операциями.

Прогнозирование течения отморожений является одной из самых актуальных проблем в современной термической травме.

У пациентов с прогнозируемым осложненным послеоперационным периодом и у пострадавших с поражением стопы и более проксимальных сегментов конечности на фоне стандартной схемы лечения нами дополнительно проводились превентивные лечебно-профилактические мероприятия в зависимости от выявленных рисков с целью предотвращения развития осложнений.

Больным с риском возникновения осложненного послеоперационного периода дополнительно проводился курс введения реамберина с последующей амбулаторной антикоагулянтной терапией.

Стационарно в течение 7 дней с момента установления факта возможных осложнений после операции назначалась инфузия реамберина в объеме 800 мл в сутки по 60 капель в минуту внутривенно.

Пациентам с риском развития гнойно-воспалительных послеоперационных осложнений назначался продолжительный курс цефалоспоринами III поколения (5-7 дней после оперативного лечения) с сопровождающейся эубиотической терапии.

Для анализа повторных операций у пациентов в поздние сроки отморожений выделено две группы пациентов: контрольная группа (n=40) пострадавших с назначенной стандартной терапией, и пациенты с применением методов прогнозирования осложнений и коррекцией проводимой терапии при выявлении риска неблагоприятного течения (n=60). Обнаружено, что у пострадавших контрольной группы осложнения выявлены у 98,2% (38/40), повторные операции – у 72% (32/40), средние сроки лечения составили 32±3 дня, инвалидизация – у 90% (36/40), отдаленные последствия обнаружены у 100% пострадавших. При этом при использовании прогностических моделей, построенных на основе данных ЭНМГ, и своевременной коррекции антикоагулянтной, дезагрегантной и антибактериальной

терапии осложнения выявлены у 43,5% (27/60), повторные операции – у 25% (15/60), средние сроки лечения составили 17±2, инвалидизация – у 60% (35/60), отдаленные последствия обнаружены у 52% (31/60) пострадавших. При изучении лабораторных показателей у пациентов с прогнозируемым неблагоприятным течением послеоперационного периода с дополнением консервативной терапии инфузией реамберина по предложенной схеме выявлено, что процент ЛТА снизился в 1,3 раза ($p<0,05$), уровень МРО уменьшился в 4,4 раза ($p<0,05$), количество циркулирующих эндотелиальных клеток сократилось в 3,1 раза ($p<0,05$), показатель периферического нейрофиламента снизился в 8,7 раза ($p<0,05$).

Выводы

1. У пациентов с отморожениями изменяется динамика электронейромиографических потенциалов; отмечается снижение биоэлектрической активности мышц конечности проксимальнее зоны поражения. До оперативного лечения значительно снижается амплитуда М-ответа и скорость распространения возбуждения, при этом резидуальная латентность повышается. После операции отмечается тенденция к восстановлению уровня биоэлектрической активности мышц. У пострадавших с отморожениями III-IV степени в крови выявлено резкое повышение фосфорилированного периферического нейрофиламента. После оперативного лечения отмечается снижение уровня нейрофиламента Н. При увеличении массива пораженных холодом тканей в крови возрастает концентрация L1-протеина

2. У пациентов с местной холодовой травмой увеличивается активность нейрогенного компонента регуляции сосудистого тонуса, уменьшается микроциркуляторный кровоток. Отклонения показателей микроциркуляции усугубляются с увеличением массива пораженных тканей и не зависят от периода криоповреждения.

3. Выявлено, что при местной холодовой травме в крови пациентов возрастает уровень матриксных металлопротеиназ 2 и 9. Увеличение концентрации коллагеназ в сыворотке крови пострадавших прямо пропорционально тяжести травмы. Содержание ингибиторов коллагеназ значительно увеличено во все периоды отморожения и не зависит от проведенного оперативного лечения и тяжести криотравмы.

4. У пациентов с местной холодовой травмой в крови снижается уровень оксида азота и асимметричного диметиларгинина во все периоды криоповреждения вне зависимости от проведенного оперативного лечения. Содержание оксида азота и асимметричного диметиларгинина в кровотоке определяется тяжестью криоповреждения. Объем пораженных холодом тканей прямо пропорционален уровню ЦЭК в сыворотке пострадавших. В поздние сроки с момента травмы уровень ЦЭК не отличается от показателей контроля. Выявлена повышенная адгезивная способность лимфоцитов с тромбоцитами во все периоды криоповреждения. До и после оперативного лечения у пациентов с местной холодовой травмой уровень миелопероксидазы и содержание молекул межклеточной адгезии выше контрольных значений.

5. Разработана классификация осложнений местной холодовой травмы. Выделены ранние и поздние осложнения при глубоких отморожениях. В ранние сроки криоповреждения у пострадавших наиболее часто выявляются нарушения чувствительности пораженной конечности (100%), судороги (87%), нарушение

координации движений (100%), а также отторжение трансплантата (12,5%), нагноение, несостоятельность швов (15,6%) и формирование некроза культи (6,3%). В поздние сроки возможны трофические нарушения (32%), остеомиелит (28%) и гангрена дистального сегмента пораженной конечности (12%).

6. Разработаны и включены в клиническую практику критерии диагностики течения и исходов хирургического лечения отморожений, с учетом предполагаемого уровня повреждения тканей при отморожениях и риска развития послеоперационных осложнений. Применение реамберина у пациентов с отморожениями снижает показатели ЛТА, количество ЦЭК, а также уровень миелопероксидазы и периферического нейрофиламента, улучшая результаты хирургического лечения местной холодовой травмы, путем снижения частоты осложнений с 98,2% до 43,5% ($p<0,001$), повторных вмешательств – с 72,0% до 25,0% ($p<0,001$).

Практические рекомендации

1. Пациентам с отморожениями конечностей III-IV степени для прогнозирования уровня повреждения тканей и развития осложнений в послеоперационном периоде при местной холодовой травме нижних конечностей до начала лечения предлагается проводить накожную стимуляционную электронейромиографию пораженной конечности и рассчитывать:

- коэффициент уровня повреждения по формуле: K=1,5 – 0,04×SEP – 0,15×AMR + 0,355×RL, где: SEP - скорость распространения возбуждения, AMR - амплитуда М-ответа, RL - резидуальная латентность; 1,5 – константа уравнения линейной регрессии; 0,04, 0,15, 0,355 – коэффициенты уравнения линейной регрессии, при значении К менее 2 прогнозируют отморожение на уровне пальцев стопы, при К от 2 до 3 – на уровне предплюсно-плюсневого сочленения, при К более 3 – тотальное поражение стопы.
- коэффициент развития осложнений по формуле: К = 1,7×АМА - 0,65, где: АМА – амплитуда М-ответа, 0,65 - константа уравнения линейной регрессии, 1,7 - коэффициент уравнения линейной регрессии, и при коэффициенте К менее 1,0 прогнозируют развитие осложнений.

2. При прогнозировании развития осложнений в послеоперационном периоде комплексную терапию предлагается усилить внутривенным введением реамбирина в дозе 60 капель в минуту в объеме 800 мл. в сутки. Курс введения препарата - 7 дней. На амбулаторном этапе дополнительно рекомендуется прием перорального антикоагулянта Прадакса 110 мг. 2 раза в сутки до еды.

3. При раннем прогнозировании объема пораженных тканей и, следовательно, планируемом объеме операции (уровне ампутации пораженной конечности) рекомендуется заранее извещать пациентов о предстоящий инвалидизации, последующих этапах реабилитации и изменении качества жизни пострадавших.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. **Пат. 2704785 РФ**, C1 A 61B 5/04. Способ прогнозирования уровня повреждения тканей при местной холодовой травме III-IV степени дистальных сегментов нижних конечностей / Михайличенко М.И., К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - № 2019108730; заявл. 26.03.2019; опубл. 30.10.2019, Бюл. № 31.

2. **Пат. 2712572 РФ**, C1 A 61B 5/04. Способ прогнозирования развития осложнений в послеоперационном периоде при местной холодовой травме нижних конечностей / Михайличенко М.И., К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров. - № 2019102995; заявл. 04.02.2019; опубл. 29.01.2020, Бюл. № 4.

3. **Пат. 2345713 РФ**, C1 A 61B 8/06. Способ прогнозирования течения раневого процесса при глубоких отморожениях нижних конечностей / Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А., Михайличенко М.И., Томина Е.А. - № 2007121162; заявл. 05.06.2007; опубл. 10.02.2009, Бюл. № 4. – 6 с.

4. **Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ 2019666297 Российская федерация**. Программа для прогнозирования уровня поражения дистальных сегментов нижних конечностей при местной холодовой травме III – IV степени / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров; заявитель и правообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия». - № 2019664994 ; заявл. 21 ноября 2019 ; опубл. 6 декабря 2019. – 1 с.

5. **Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ 2019612961 Российская федерация**. Программа для ранней диагностики уровня поражения дистальных сегментов конечностей при местной холодовой травме III – IV степени / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров; заявитель и правообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия». - № 2019612961 ; заявл. 21 февраля 2019 ; опубл. 5 марта 2019. – 1 с.

6. **Михайличенко, М.И**. Классификация осложнений местной холодовой травмы / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров // **Вестник хирургии имени И. И. Грекова**. – 2021. - №2. – С. 37–41. DOI: 10.24884/0042-4625-2021-180-2-37-41

7. **Михайличенко, М.И**. Динамика нейромышечной активности у пациентов с местной холодовой травмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров [и др.] // **Вестник хирургии имени И. И. Грекова**. - 2019. - №5. – С. 47–51. DOI: 10.24884/0042-4625-2019-178-5-47-51.

8. **Михайличенко, М.И**. Прогнозирование осложнений у пациентов с местной холодовой травмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров // **Вестник**

национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2020. - №2. – С. 92-97.

9. **Михайличенко, М.И**. Периферическая нейродеструкция у пациентов с местной холодовой травмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров [и др.] // **Новости хирургии. –** 2020. - №4. – С. 536-542. DOI: 10.18484/2305-0047.2020.4.536.

10. **Михайличенко, М.И**. Патогенетическое значение дисфункции эндотелия в формировании гипертонуса периферической сосудистой стенки при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров [и др.] // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2020. - №4. – С. – 54-61. DOI: 10.25557/0031-2991.2020.04.54-61.

11. **Михайличенко, М.И.** Комплексная оценка периферической иннервации и изменений колебаний микрокровотока при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2021. - №2. – С. 78-84. DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.78-84

12. **Михайличенко, М.И**. Особенности нарушений микроциркуляции и межклеточных взаимодействий при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров [и др.] // **Регионарное кровообращение и микроциркуляция**. - 2020**.** №2. – С. 11-17. DOI: 10.24884/1682-6655-2020-19-2-11-17.

13. **Михайличенко, М.И**. Микроциркуляторные нарушения в патогенезе местной холодовой травмы / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов // **Регионарное кровообращение и микроциркуляция**. – 2019. - №2. – С. 4-11. DOI: 10.24884/1682-6655-2019-18-2-4-11.

14. **Михайличенко, М.И**. Динамика уровня миелопероксидазы и сывороточного кальпротектина при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров // **Acta biomedica scientifica**. – 2020. - №3. – С. 24-28. DOI: 10.29413/ABS.2020-5.3.3.

15. **Михайличенко, М.И**. Динамика матриксных металлопротеиназ при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров [и др.] // **Acta biomedica scientifica**. – 2019. - №5. – С. 79-83. DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.13

16. **Михайличенко, М.И**. Влияние кальпротектина на активность межклеточных взаимодействий при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров // **Сибирское медицинское обозрение**. – 2020. - №2. – С. 74-79. DOI: 10.20333/2500136-2020-2-74-79.

17. **Михайличенко, М.И**. Значение матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в течении раневого процесса при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров [и др.] **// Якутский медицинский журнал**. – 2019. - №2. С. 72-77. DOI: 10.25789/YMJ.2020.70.22.

18**.** Груздева, О.С. Состояние систем перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у больных в разных периодах местной холодовой травмы конечностей / О.С. Груздева, К.Г. Шаповалов, **М.И. Михайличенко** // **Дальневосточный медицинский журнал**. - 2020. - №4. – С. 5-10. DOI: 10.35177/1994-5191-2020-4-5-10

19. **Михайличенко, М.И**. Изменение уровня молекул межклеточной адгезии и асимметричного диметиларгинина при местной холодовой травме / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Мудров [и др.] // **Тромбоз, гемостаз и реология**. – 2021. - №2. – С. 70-79. DOI: 10.25555/THR.2021.2.0976.

20. **Михайличенко, М.И.** Агрегация тромбоцитов у больных с местной холодовой травмой на фоне внутриартериального введения гепарина / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, Ю.А. Витковский [и др.] // **Актуальные вопросы интенсивной терапии**. – 2008. - №1. – С. 25-27.

21. **Михайличенко, М.И**. Коррекция состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при отморожениях конечностей / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, В.А. Иванов [и др.] **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН**. – 2008. - №3. – С. 118-119.

22. Шаповалов, К.Г. Роль лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, цитокинов и эндотелиальной дисфункции в патогенезе повреждения холодом / К.Г. Шаповалов, **М.И. Михайличенко,** Ю.А. Витковский // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия. –** 2009. - №1. – С. 39-40.

23. Шаповалов, К.Г. Уровень цитокинов в крови больных с различной тяжестью местной холодовой травмы / К.Г. Шаповалов, **М.И. Михайличенко**, В.А. Иванов [и др.] // **Российский иммунологический журнал**. – 2008. - №2. – С. 117-122.

24. Шаповалов, К.Г. Функциональное состояние тромбоцитов при местных холодовых поражениях / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, **М.И. Михайличенко** [и др.] // **Казанский медицинский журнал**. – 2008. - №5. – С. 662-665.

25. Шаповалов, К.Г. Содержание цитокинов в жидкости пузырей, крови и субпопуляции лимфоцитов при местной холодовой травме / К.Г. Шаповалов, В.А. Иванов, **М.И. Михайличенко** [и др.] // **Иммунология**. – 2008. - №3. – С. 170-172.

26. Шаповалов, К.Г. Особенности экспрессии тканевого фактора моноцитами периферической крови при холодовом повреждении / К.Г. Шаповалов, В.А. Иванов, **М.И. Михайличенко** [и др.]// **Дальневосточный медицинский журнал**. – 2008. - №3. – С. 42-44.

27. Шаповалов, К.Г. Повреждение клеток эндотелия и динамика цитокинов у больных в разные периоды местной холодовой травмы / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, **М.И. Михайличенко** [и др.] // **Травматология и ортопедия России**. – 2008. - №1. – С. 35-37.

28. Шаповалов, К.Г. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, **М.И. Михайличенко** [и др.] // **Медицинская иммунология**. – 2008. - №1. – С. 89-92.

29. Шаповалов, К.Г. Изменения агрегационных свойств тромбоцитов у больных с местной холодовой травмой / К.Г. Шаповалов, **М.И. Михайличенко,** В.А. Иванов // **Дальневосточный медицинский журнал**. – 2007. - №4. – С. 33-35.

30. Шаповалов, К.Г. Современные аспекты организации помощи больным с местной холодовой травмой верхних конечностей / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, **М.И. Михайличенко** // **Травматология и ортопедия России**. – 2008. - №2. – С. 88-89.

31. Бурдинский, Е.Н. Оценка эффективности проводниковых блокад при местной холодовой травме методом лазерной допплеровской флоуметрии / Е.Н. Бурдинский, К.Г. Шаповалов, М.И. Михайличенко [и др.] // Забайкальский медицинский вестник. – 2007. - №1. – С. 23-24.

32. Шаповалов, К.Г. Особенности течения раневого процесса при глубоких отморожениях конечностей / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, **М.И. Михайличенко** [и др.] // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН**. - 2007. - №5. – С. 184-183.

33. Шаповалов, К.Г. Изменения адгезивной функции лимфоцитов к тромбоцитам при местной холодовой травме / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, **М.И. Михайличенко** [и др.] // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН**. – 2007. - №5. – С. 182-183.

34. Михайличенко, М.И. Лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия у больных с холодовой травмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2006. - №2. - С. 19-21.

35. **Михайличенко, М.И**. Изменения агрегации тромбоцитов у больных с криотравмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, С.И. Михайличенко // **Хирургическая практика.** – 2011. - №3. – С. 21-23.

36. Шаповалов, К.Г. Состояние микроциркуляторного русла и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у больных с местной холодовой травмой при различных схемах интенсивной терапии / К.Г. Шаповалов, М.И. Михайличенко // Сб. мат. XI съезда федерации анестезиологов – реаниматологов. – С.-Пб. - 2008. - С. - 224 – 225.

37. Шаповалов, К.Г. Коллагенсвязывающая активность фактора Виллебранда и агрегация тромбоцитов у пострадавших с отморожениями / К.Г. Шаповалов, М.И. Михайличенко, Ю.А. Витковский // Актуальные проблемы клинической и

экспериментальной медицины: материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 55-летию Читинской государственной медицинской академии – Чита : ЧГМА, 2008. С. – 332 – 333.

38. Шаповалов, К.Г. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у пациентов с местной холодовой травмой / К.Г. Шаповалов, М.И. Михайличенко, Ю.А. Витковский // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 55-летию Читинской государственной медицинской академии – Чита : ЧГМА, 2008. – С. – 331 – 332.

39. Груздева, О.С. Особенности течения и исходы при местной холодовой травме конечностей / О.С. Груздева, М.И. Михайличенко // Современные проблемы анестезиологии и реаниматологии. Сборник научных трудов Всероссийской конференции. Под общей редакцией К.Г. Шаповалова – Чита: ЧГМА, 2019. — С. – 23 — 025.

40. Михайличенко, М.И. Динамика электронейромиографических потенциалов у пациентов с отморожениями / М.И. Михайличенко // Современные проблемы анестезиологии и реаниматологии. Сборник научных трудов Всероссийской конференции. Под общей редакцией К.Г. Шаповалова. – Чита: ЧГМА, 2019. — С. — 51 — 53.

41. Михайличенко, М.И. Электронейромиографические потенциалы у пациентов с криотравмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов // Неотложная хирургия в онкологии. Сборник тезисов научно-практической межрегиональной конференции. — Чита: ЧГМА, 2019. — С. — 54 — 55.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

А(н) – максимальные амплитуды колебаний нейрогенного диапазона,
аМо – амплитуда моторного ответа,
мС – миллисекунд,
мВ – милливольт,
ИФА – иммуноферментный анализ,
КРБС – комплексный регионарный болевой синдром,
ЛДФ – лазерная допплеровская флоуметрия,
ЛТА – лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия,
МНО - международное нормализованное отношение,
ПГЭ – период гранулирования и эпителизации,
ПМ - показатель микроциркуляции,
ПРП – поздний реактивный период,
ПШ – показатель шунтирования,
РЛ – резидуальная латентность,
СРВ – скорость распространения возбуждения,
ЦЭК – циркулирующие эндотелиальные клетки,
ЭНМГ – электронейромиография,
ADMA – асимметричный диметиларгинин,
IL- интерлейкин,
MMP – матриксные металлопротеиназы,
MPO – миелопероксидаза,
MPR 8/14 – сывороточный кальпротектин,
NO – оксид азота,
TIMP – ингибиторы матриксных металлопротеиназ,
pNF-H – периферический нейрофиламент Н.