

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Поляков Игорь Станиславович

**ИННОВАЦИОННАЯ ПРОФИЛАКТИКА И ХИРУРГИЯ
ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ СВИЩЕЙ БРОНХОВ И ТРАХЕИ
(экспериментально-клиническое исследование)**

3.1.9. Хирургия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

доктор медицинских наук,

профессор, академик РАН

Порханов Владимир Алексеевич

Краснодар – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	19
1.1 Вопросы этиологии, классификации и частоты развития свищей...	19
1.2 Диагностика свищей верхних дыхательных путей и эмпиемы плевры.....	21
1.3 Патогенез развития бронхиальных свищей.....	25
1.4 Факторы риска развития бронхиальных свищей.....	32
1.5 Влияние техник наложения анастомоза и шовного материала.....	38
1.6 Методы профилактики развития бронхиальных свищей.....	41
1.7 Способы лечения бронхиальных свищей.....	43
1.8 Лечение послеоперационной эмпиемы плевры.....	54
1.9 Возможности регенеративной медицины в торакальной хирургии	58
1.9.1 Типы клеточной терапии и их применение в современной медицине.....	59
1.9.2 Доклинические исследования.....	64
1.9.3 Клинические примеры применения клеточной терапии.....	67
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	74
2.1. Экспериментальное исследование на животных.....	75
2.1.1. Дизайн экспериментального исследования.....	75
2.1.2. Получение компонентов клеточного препарата.....	76
2.1.3. Модель введения клеточного препарата.....	77
2.1.3.1. Модель введения клеточного препарата в область трахеального анастомоза.....	79
2.1.3.2. Модель введения клеточного препарата в культуру бронха.....	82
2.1.4. Оценка состояния и послеоперационное наблюдение в рамках созданных моделей.....	83
2.2. Клиническое исследование.....	85
2.2.1. Формирование групп наблюдения.....	85
2.2.2. Приготовление компонентов клеточного препарата.....	86

2.2.3. Введение клеточного препарата при бронхиальном свище	87
2.2.4. Интраоперационное введение клеточного препарата.....	88
2.2.5. Клиническая характеристика пациентов с бронхиальными свищами без применения клеточной терапии.....	89
2.2.6. Клиническая характеристика пациентов с бронхиальными свищами с применением клеточной терапии.....	89
2.2.7. Клиническая характеристика пациентов с интраоперационным профилактическим введением клеточного препарата.....	91
2.3. Гистологическое исследование.....	91
2.4. Иммуногистохимическое исследование.....	92
2.5. Иммуноферментный анализ.....	92
2.6. Характеристика пациентов в группе применения вакуум-ассистированной повязки	94
2.7. Технология наложения вакуумной повязки.....	95
2.8. Статистическая обработка данных.....	96
ГЛАВА 3. ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА КЛЕТОЧНОГО ПРЕПАРАТА	98
3.1. Сравнение клеточных препаратов. Выбор технологии.....	98
3.2. Характеристика первого компонента клеточного препарата – аллогенных дермальных фибробластов.....	101
3.3. Характеристика второго компонента клеточного препарата – аутологичного лизата тромбоцитов.....	105
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО ПРЕПАРАТА.....	110
4.1. Обоснование создания экспериментальной модели повреждений трахеобронхиального дерева на крупном животном.....	110
4.2. Оценка результатов применения клеточного препарата на экспериментальной модели.....	110
4.3. Сравнительный морфологический анализ динамики раневых процессов в послеоперационном периоде.....	113
4.4. Сравнительный количественный иммуноферментный анализ различных медиаторов в сыворотке крови приматов.....	126
ГЛАВА 5. ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО ПРЕПАРАТА В КЛИНИКЕ И РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ.....	133
5.1. Общая характеристика.....	133
5.2. Анализ клинических результатов наблюдения основной группы	134

5.3. Анализ клинических результатов наблюдения контрольной группы без применения клеточного препарата.....	148
5.4. Сравнительный клинический анализ ранних и отдаленных результатов лечения бронхиальных свищей основной и контрольной групп.....	152
5.5. Результаты оценки биологического влияния клеточного препарата на регенеративные процессы	157
5.6. Результаты клинического применения клеточного препарата для профилактики бронхиальных пострезекционных осложнений.....	165
5.7. Анализ онкологической безопасности способа применения клеточного препарата.....	169
ГЛАВА 6. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВАКУУМ-АССИСТИРОВАННОЙ ПОВЯЗКИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПОСТПНЕВМОНЭКТОМИЧЕСКОЙ ЭМПИЕМЫ ОСТАТОЧНОЙ ПЛЕВРАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ.....	172
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	192
Выводы.....	204
Практические рекомендации.....	206
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	209
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	211
СПИСОК ИЛЛЮСТРИРОВАННОГО МАТЕРИАЛА.....	240
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	246
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Протокол выдачи.....	247
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Протокол введения (эндоскопический способ).....	248
ПРИЛОЖЕНИЕ В. Прокол введения (интраоперационный способ).....	249
ПРИЛОЖЕНИЕ Г. Спецификация.....	250
ПРИЛОЖЕНИЕ Д. Патенты на изобретение.....	252
ПРИЛОЖЕНИЕ Е. Акты об использовании предложений.....	253

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Трахеобронхиальные и плевральные осложнения после резекционных операций на легких остаются актуальной проблемой в торакальной хирургии, несмотря на современные достижения и внедрение в клиническую практику новых технологий и научных достижений. Формирование бронхиального свища (БС) и эмпиемы плевры приводит к развитию каскада серьезных осложнений, в том числе, и фатальных: пневмонии единственного легкого, дыхательной недостаточности, сепсису и летальному исходу. По данным литературы смертность, связанная с БС и эмпиемой плевры, составляет от 18% до 71,2 % [76, 112, 234].

Бронхиальные свищи имеют различную этиологию и характеризуются наличием патологического сообщения между главным, долевым или сегментарным бронхами и плевральной полостью. В механизме развития БС важную роль играет нарушение местного кровоснабжения и ишемический некроз бронхиальной стенки.

Пострезекционная эмпиема плевры чаще возникает после пневмонэктомии и определяется как гнойно-воспалительный процесс в плевральной полости. Предрасполагающими факторами развития эмпиемы являются непосредственно само заболевание, по поводу которого выполняется оперативное вмешательство, выполнение лимфодиссекции, повторная операция, коморбидный фон пациента.

В последние десятилетия совершенствование хирургической техники, антибиотикотерапия, улучшение послеоперационного наблюдения привели к снижению частоты развития несостоятельности культи бронха до 3–4% [155, 209].

Ввиду последствий, к которым приводит появление БС или эмпиема плевры, требуется максимально быстро начинать лечение, а также предотвращать их возникновение.

Известные на сегодняшний день методы хирургического лечения БС имеют высокие риски осложнений и низкую эффективность [155], а малоинвазивные эндоскопические техники введения в дефект культи фибринового клея, окклюдеров, заглушек и других веществ подходят для пациентов, имеющих

размеры БС менее 5 мм [109]. В случае более крупных свищей вероятность их заживления остаётся низкой [180].

Поиск новых малоинвазивных способов лечения БС, которые бы отличались высокой эффективностью, направляет клиницистов и исследователей в сторону изучения возможного применения технологий регенеративной медицины, например, клеточной терапии. Особенностью клеточных препаратов является их влияние на патогенетические механизмы, а именно стимуляция заживления ткани. Важным моментом в этих разработках является выбор клеточного препарата и его способ применения.

Современная терапия эмпиемы плевры подразумевает местное и общее лечение пациента. Местное лечение плевры затруднительно, часто заканчивается формированием хронической эмпиемы плевры. В последние годы в различных областях гнойной хирургии широкое применение получила вакуум-ассистированная повязка (ВАП). Ее используют совместно с остальными традиционными вариантами лечения – антибактериальной, антисептической, противовоспалительной терапией, а также различными вариантами дренирования и промывания гнойных ран и полостей. Однако практически отсутствует мировой опыт применения вакуум-ассистированной повязки для профилактики развития эмпиемы плевры и бронхиального свища после пневмонэктомии при тяжелых нагноительных заболеваниях (например, при гангрене легкого), а также осложненных внутригрудных онкологических деструктивных процессах. В этой связи необходимо дальнейшее проведение научных исследований.

Таким образом, профилактика и лечение несостоятельности культи бронха после пневмонэктомии и пострезекционной эмпиемы плевральной полости сохраняют свою актуальность. Появившиеся современные биомедицинские технологии, такие как, клеточная терапия и технические вариации хирургического лечения могут улучшить ситуацию. Следовательно, необходима разработка новых способов профилактики и лечения БС и эмпиемы плевры, проведение исследований и определение места каждого способа в алгоритме

периоперационного ведения пациентов с повышенным риском развития или наличием осложнений после резекции легкого.

Степень разработанности темы

Для лечения свищей используются консервативные, эндоскопические, а также хирургические методики. Все они направлены в первую очередь на борьбу с гнойно-деструктивными процессами и устранение свища. Лечение эмпиемы плевры, возникшей после пневмонэктомии, включает в себя хирургическую обработку пораженной области и подбор антибактериальной терапии, основанной на результатах анализа чувствительности микроорганизмов, выделенных из экссудата, к антибиотикам [209, 234]. Для лечения БС размером до 5 мм применяется консервативная тактика: установка стентов Дюмона, использование сосудистых окклюдеров, физиотерапевтические и химические методы локального воздействия [2, 112, 155, 209, 234, 248]. Возможно также применение разнообразных герметизирующих веществ, электрокоагуляции, лазерной терапии, а также прижигания трихлоруксусной кислотой и нитратом серебра [58]. Помимо этого, используются эндоскопические техники локального введения в область дефекта фибринового клея, заглушек, и др. [130, 223, 237]. Более радикальным способом лечения БС считается хирургическое вмешательство. К оперативным способам лечения БС относят прямое закрытие культи разными аутологичными тканями, трансстернальное закрытие бронхов и торакопластику с экстраторакальной транспозицией мышц грудной стенки или без нее. Эффективность открытой операции является высокой и достигает 80–90% [22, 80, 152]. Однако ее выполнение не всегда представляется возможным ввиду тяжести состояния пациента, и как следствие, увеличения риска развития послеоперационных осложнений.

Для поиска способа закрытия БС в литературе приводятся данные о различных вариантах применения клеточной терапии. К ним относятся клеточные препараты на основе мезенхимальных стволовых клеток (МСК), фибробластов, стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани, обогащенная

тромбоцитами плазма (ОБТП) [30, 69, 86, 97, 213, 219, 221, 226]. Тем не менее, результаты исследований представлены в виде экспериментальных разработок либо же являются описанием единичных клинических случаев или серии случаев. Для оценки эффективности клеточной терапии и последующего внедрения в широкую практику требуется проведение крупных доклинических и клинических исследований. Необходимо изучить биологическую совместимость клеточного препарата как на тканевом уровне, так и на системном, и оценить его эффективность и нежелательные явления, прежде чем рекомендовать для клинического применения.

В протокол лечения пострезекционной эмпиемы плевры входит активная санация плевральной полости через дренаж, антибиотикотерапия, применение малоинвазивных способов. Видеоторакоскопическое очищение внутренней поверхности плевральной полости также является эффективным способом лечения эмпиемы. Это подтверждено многими исследованиями, в которых публикуются похожие результаты данного варианта по сравнению с открытой хирургией [136, 232, 233]. Торакостомия – эффективный, но травматичный и болезненный вариант лечения эмпиемы. При торакостомии выполняют резекцию ребер и формируют «окно» в грудной клетке, через которое проводят открытое лечение эмпиемы путем многочисленных перевязок с применением марлевых салфеток и химических агентов [6, 14]. Альтернативным вариантом послеоперационного ведения торакостомы с ее многочисленными ежедневными перевязками может быть использование терапии отрицательного давления. На сегодняшний день для лечения гнойных ран, в том числе грудной стенки, широко применяется ВАП [21, 53, 71, 138, 142]. Особенности использования отрицательного давления в лечении эмпиемы плевры после пневмонэктомии недостаточно освещены в литературных источниках. Кроме того, отсутствует общепринятый алгоритм лечения подобных пациентов [113]. Целесообразной стала разработка подходов к лечению эмпиемы плевры с помощью вакуума, в том числе и для предотвращения возникновения БС.

Цель исследования – усовершенствовать профилактику и улучшить результаты лечения послеоперационных бронхиальных свищей и эмпиемы плевры с помощью инновационных технологий.

Задачи исследования

1. Обосновать выбор метода клеточной терапии для профилактики и лечения бронхиальных свищей.
2. Создать экспериментальную модель по изучению заживления культи главного бронха после пневмонэктомии и трахеального анастомоза после резекции трахеи на крупном лабораторном животном.
3. Оценить влияние клеточного препарата на скорость заживления ткани бронхов и его биосовместимость путем сравнительного морфологического анализа динамики раневых процессов в экспериментальной и контрольной группах.
4. Провести сравнительный количественный иммуноферментный анализ различных медиаторов в сыворотке крови приматов в послеоперационном периоде.
5. Оценить клиническую эффективность способа лечения бронхиальных свищей с использованием клеточного препарата путем сравнения основной и контрольной групп.
6. Изучить биологическое влияние клеточного препарата на регенеративные процессы поврежденной ткани бронха в клинике с помощью сравнительного и корреляционного анализов динамики медиаторов в разные дни наблюдения.
7. Оценить результаты клинического применения клеточного препарата для профилактики бронхиальных пострезекционных осложнений.
8. Изучить онкологическую безопасность предлагаемого клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов для лечения и профилактики бронхиального свища.
9. Разработать методику и показания к применению вакуум-ассистированной повязки и оценить результаты ее использования для профилактики и лечения постпневмонэктомической эмпиемы плевры без

бронхиального свища у пациентов групп высокого риска по развитию несостоятельности культи бронха.

10. На основании результатов исследования разработать и обосновать протокол персонализированной профилактики и лечения пострезекционных бронхиальных свищей с применением клеточного препарата, созданного на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов.

Научная новизна исследования

Впервые на большой выборке экспериментального материала и клинических данных проанализированы результаты применения клеточной терапии на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов в торакальной хирургии.

Впервые предложено включить в существующий в настоящее время алгоритм периоперационной терапии пострезекционных гнойно-воспалительных и бронхоплевральных осложнений инновационные методы их профилактики и лечения: введение клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов непосредственно в культю бронха, трахеальный анастомоз или в область бронхиального свища; применение на завершающем этапе операции у пациентов высокого риска вакуум-ассистированной повязки, вводимой в остаточную плевральную полость после пневмонэктомии.

Разработана на крупных животных (приматы вида *Papio anubius*) экспериментальная модель изучения процессов заживления повреждения культи главного бронха после пневмонэктомии, а также трахеального анастомоза. Впервые были изучены механизмы регенерации тканей в области операционного трахеобронхиального шва в условиях применения клеточного препарата. Установлено, что его использование стимулирует процессы регенерации послеоперационной раны быстрее, чем без ее применения. При этом доказано, что грануляционная ткань покрывается восстановленным дыхательным эпителием.

Доказана возможность применения и представлено подробное описание методики малоинвазивного эндоскопического пути введения клеточного препарата в область БС после соответствующей обработки краев последнего, что соответствует персонализированному лечению пациентов с учетом патогенетических особенностей. Впервые установлено, что раннее начало местного прецизионного введения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов приводит к положительным результатам без проведения дополнительных оперативных вмешательств.

Впервые показано, что использование клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов эффективно для лечения пациентов с БС от 0,1 мм до полной несостоятельности, а также для профилактики возникновения трахеобронхиальных свищей. Определены показания для его применения с лечебной и профилактической целями.

Впервые доказана эффективность применения вакуум-ассистированной повязки на завершающем этапе операции для профилактики гнойно-воспалительных бронхоплевральных осложнений, а также предупреждения развития торакальной фистулы у больных гангреной легкого после пневмонэктомии. При этом удалось значительно снизить летальность и ускорить выздоровление данной крайне тяжелой категории пациентов.

Теоретическая и практическая значимость работы

При проведении диссертационного исследования была разработана экспериментальная модель изучения процессов заживления культи главного бронха и межтрахеального анастомоза после пневмонэктомии на крупном животном (приматы вида *Papio anubius*). Предложенная модель является воспроизводимой и может быть использована для разработки других подходов к терапии патологий трахеобронхиального дерева. Полученные данные выявили характерные морфологические и лабораторные особенности динамики раневого процесса после оперативного вмешательства на дыхательных путях при

применении клеточного препарата в условиях эксперимента. Результаты исследования подтвердили биологическую совместимость клеточного препарата с тканями дыхательных путей на модели примата, что открывает возможности для разработки других методов клеточной терапии.

Разработан и обоснован способ применения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов для лечения бронхиальных свищей. Доказана эффективность и безопасность использования клеточного препарата в отдаленном периоде (в течение 5 лет) у онкологических пациентов, так как частота прогрессирования опухолевого процесса не выше у пациентов, получивших стандартную терапию рака легкого. Полученные результаты позволят улучшить качество оказания помощи пациентам с бронхиальными свищами, лечение которых ранее было мало перспективным.

Предложен и обоснован способ применения вакуум-ассистированной повязки, которую устанавливали после пневмонэктомии на завершающем этапе операции для профилактики развития гнойных осложнений плевральной полости. Сравнение этого способа с «классической» пневмонэктомией доказало его целесообразность, поэтому он может быть рекомендован для широкого клинического применения.

Методология и методы исследования

Исследование носило ретроспективно-проспективный, рандомизированный, интервенционный одноцентровой характер. Работа состоит из двух разделов, в которых представлены инновационные технологии для улучшения заживления культи главного бронха после пневмонэктомии и межтрахеального анастомоза, а также профилактики и лечения послеоперационных осложнений (трахеобронхиальный свищ, пострезекционная эмпиема плевры).

Первый раздел работы представлен экспериментальным исследованием на крупных животных, случайным образом распределенных по группам, выполненным в ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии».

Второй раздел, клинический, представляет собой ограниченное ретроспективно-проспективное рандомизированное интервенционное одноцентровое исследование, проведенное в торакальных отделениях государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им проф. С.В. Очаповского» Министерства здравоохранения Краснодарского края. Клинический раздел включал в себя три части: сравнительный анализ лечения БС с помощью «стандартных» методов и предложенного клеточного препарата; анализ результатов интраоперационного введения клеточного препарата для профилактики возникновения БС. Третья часть – анализ результатов интраоперационного применения ВАП для профилактики гнойно-воспалительных бронхоплевральных осложнений после пневмонэктомии у пациентов высокого риска.

В соответствии с целью и задачами были использованы общеклинические, инструментальные (компьютерная томография, фибробронхоскопия), лабораторные (гистологический, иммуногистохимический, иммуноферментный анализ) и статистические методы исследования. Были проанализированы непосредственные и отдаленные результаты (наблюдение через 6 месяцев и до 5 лет) оперативного лечения в группах.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Научное обоснование выбора клеточного препарата, который состоит из аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов, для профилактики и лечения бронхиальных свищей основывается на механизмах действия компонентов клеточного препарата (влияние на регенеративные процессы), на способе их получения (доступность и быстрота изготовления) и технологии их введения (доставка через эндоскоп).

2. Созданная на крупных животных экспериментальная модель изучения процессов заживления культи главного бронха после пневмонэктомии, а также межтрахеального анастомоза позволяет провести достоверные научные исследования о влиянии применения клеточных препаратов на процессы местной

регенерации дыхательных путей и на организм в целом. Эти результаты аналогичны таковым у человека, что позволяет трансформировать методику для применения в клинической практике.

3. Биологическая совместимость клеточного препарата с тканью трахеи и бронха и его влияние на процессы заживления подтверждается с помощью методов гистологического и иммуногистохимического анализов раневых процессов в разные сроки послеоперационного наблюдения. Динамика медиаторов в сыворотке крови приматов дополнительно подтверждает влияние клеточного препарата на активацию процессов регенерации.

4. Разработанный способ применения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов безопасен в применении и эффективен для профилактики и лечения бронхоплевральных осложнений после резекционных операций в торакальной хирургии и онкологии. Эффективность лечения несостоятельности бронхиальных швов при помощи клеточного препарата зависит от сроков его использования. Предпочтение следует отдавать раннему введению после соответствующей обработки краев дефекта в бронхе. Отдаленные результаты использования предложенного клеточного препарата демонстрируют его онкологическую безопасность – частота прогрессирования опухоли при его применении не выше, чем у пациентов с раком легкого, перенесших пневмонэктомию и получивших традиционное лечение.

5. Профилактическое применение вакуум-ассистированной повязки после пневмонэктомии у больных высокого риска позволяет избежать характерных для этого заболевания осложнений – эмпиемы плевры и бронхиальных свищей. Удовлетворительного результата позволяет добиться соблюдение методики наложения повязки внутри остаточной плевральной полости и ее периодическая смена с целью исключения как патологической флотации средостения, так и ее дополнительной фиксации к органам средостения, а также к крупным сосудам сердца.

6. Разработанный протокол персонализированной профилактики и лечения пострезекционных бронхиальных свищей с применением клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов позволяет улучшить результаты лечения пациентов и усовершенствовать качество оказания медицинской помощи.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждаются результатами экспериментального исследования на крупных лабораторных животных (n=22), достаточным количеством клинических наблюдений (всего n=155), а также на основании комплексного обследования экспериментальных животных и пациентов с использованием современных лабораторных и инструментальных методов. Фактический материал достаточен, хорошо иллюстрирован графиками, таблицами и рисунками. Поставленные в диссертационном исследовании задачи соответствуют цели исследования. Полученные выводы и практические рекомендации аргументированы результатами и логически из них вытекают.

Основные результаты диссертационного исследования представлены на конференциях: X международный конгресс Актуальные направления современной кардиоторакальной хирургии (17-19 июня 2021, Санкт-Петербург), 6th International World Congress THERMIS (15–19 ноября 2021 г., Маастрихт, Нидерланды), 30-й конгресс Всемирного общества сердечно-сосудистых и торакальных хирургов (15-18 сентября 2022г., Санкт-Петербург), 12-й международный конгресс Актуальные направления современной кардио-торакальной хирургии (22-24 июня, 2023г., Москва), Актуальные вопросы регенеративной медицины: клеточные технологии, тканевая инженерия (22-26 июня 2023г., г.Самара), VI Международный форум онкологии и радиотерапии (11-15 сентября 2023г., г. Москва), VI Национальный конгресс по регенеративной медицине(13-15 ноября 2024 года, Санкт-Петербург), VII Международный форум онкологии и радиотерапии (18-20 сентября 2024г., Москва), форум Инновации в хирургии, онкохирургии и трансплантологии (19-20

декабря 2024г., Москва), Республиканская научно-практическая конференция с международным участием Торакальная онкопатология (6 декабря 2024г., Москва), VIII Конгресс хирургов Юга России «Актуальные вопросы хирургической тактики в современных условиях» (15-16 мая 2025г., Нальчик), XIV-й Международный конгресс «Актуальные направления современной кардио-торакальной хирургии» (23-25 июня 2025г., Санкт-Петербург).

Апробация диссертации проведена на объединенном заседании кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии, кафедры хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «КубГМУ» МЗ РФ).

Внедрение результатов исследования

Результаты научных исследований, описанные в данной диссертационной работе, были внедрены в работу государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Научно-исследовательский институт – Краевая Клиническая больница № 1 имени профессора С. В. Очаповского» министерства здравоохранения Краснодарского края, государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Клинический противотуберкулезный диспансер» министерства здравоохранения Краснодарского края, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (г. Сочи), государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Самарская областная клиническая больница имени В. Д. Середавина», федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Ростов-на-Дону) используются в обучении врачей на сертификационных циклах по торакальной хирургии, гнойной хирургии, а также на практических занятиях и лекциях у клинических ординаторов различных хирургических специальностей и студентов. Фундаментальные биологические аспекты данной диссертационной работы применяются в ходе

обсуждений на конференциях, относящихся к биологическим наукам, клеточным технологиям и регенеративной медицине, а также при обучении студентов и ординаторов соответствующих специальностей. Результаты диссертационной работы были внедрены в ежедневную клиническую практику торакальных отделений ГБУЗ «НИИ-ККБ №1».

Личный вклад автора в исследование

Личный вклад автора заключался в постановке цели и формулировании научных задач, сборе и обработке литературных данных, а также участии в проведении экспериментальных и клинических исследований. Автором выполнены обобщение и анализ полученных материалов, статистическая обработка результатов, подготовка текста диссертации и иллюстративного материала. Кроме того, сформулированы основные выводы и внедрены в практику результаты диссертационной работы. Автор осуществил ведущую роль в выборе алгоритма экспериментально-клинического исследования, анализе и обобщении полученных данных. Он сформировал команду единомышленников, включающую хирургов, специалистов по клеточным технологиям и регенеративной медицине, экспертов по работе с экспериментальными животными, а также морфологов и лабораторных диагностов. В рамках исследования автор проводил оперативные вмешательства на крупных животных и пациентах, осуществлял анализ результатов и их сравнение. Полученные результаты были внедрены в практику других лечебных учреждений, а также представлены в научных публикациях и на различных форумах и конференциях в виде многочисленных докладов.

Публикация результатов исследования

На основании результатов диссертационного исследования было опубликовано работы, в том числе в 14 журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, или индексируемых базой данных RSCI, или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования,

рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним, в том числе 11 работ в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и WoS, 1 патент РФ на изобретение (Приложение Д).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 261 странице машинописного текста, состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка используемой литературы, приложений, иллюстрирована 73 рисунками и 25 таблицами. Список литературы включает ссылки на 257 источников, из которых 53 – отечественные публикации и 204 – зарубежные.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Вопросы этиологии, классификации и частоты развития свищей

Проблема возникновения свищей верхних дыхательных путей остается актуальной в торакальной хирургии, несмотря на прогресс трансляционной медицины и внедрение в клиническую практику новых технологий и научных достижений. Бронхиальные свищи (БС) имеют различную этиологию и характеризуются наличием патологического сообщения между главным, долевым или сегментарным бронхом и плевральной полостью. Данная патология может представлять собой опасное для жизни осложнение после пневмонэктомии или иной формы легочной резекции.

Согласно различным источникам, вероятность развития свища составляет от 2,5 до 20%, при этом уровень смертности, связанный с данной патологией, варьирует в диапазоне от 18 до 75% [76, 155, 234]. Согласно Y. Wang и соавт., частота развития БС после резекции легкого составляет 0,5%. Однако уровень смертности, связанный с БС, достигает 18–50% [248]. По данным другого автора частота развития БС после пневмонэктомии составляет 4,5–20% и 0,5–15% после лобэктомии и ассоциируется с высокой летальностью (от 25 до 67%) [112].

Первое упоминание о бронхиальных свищах датируется 1933 годом, когда была выполнена первая пневмонэктомия, которая имела осложнение в виде свища, впоследствии успешно излеченного [116]. В течение последующих десятилетий наблюдалось устойчивое увеличение заболеваемости раком легкого, что, в сочетании с развитием торакальной хирургии и значительным ростом числа операций, сделало бронхиальные свищи одной из наиболее серьезных проблем в области хирургии рака легкого. Исследования причин их возникновения

проводились в различных аспектах, включая как биологические, так и технологические факторы.

В 1956 году V. Bjork отметил, что «фактически существует лишь одна причина развития бронхиальных свищей – инфекция» [72]. Вторую причину возникновения послеоперационных свищей связывали с методом обработки культи главного бронха. В этом контексте особые надежды возлагались на новые сшивающие аппараты, включая советские устройства: ушиватель корня легкого (УКЛ) и ушиватель культи бронха (УКБ). Использование этих методов при обработке бронхиальной культи изложено в работе Н.М. Амосова, а также в нескольких последующих исследованиях [63, 118, 209].

В настоящее время, несмотря на прогресс в хирургических методах обработки культи, а также использование инновационных инструментов, осложнения при бронхолегочных операциях остаются ведущей причиной развития БС. Исследователи, занимающиеся данной проблематикой, выделяют ряд благоприятных условий для формирования БС. Например, структурные особенности строения бронха. Слабость швов чаще наблюдается в мембранозной части, что связано с её потенциальным перерастяжением, поэтому хирургам следует уделять особое внимание обработке широкой мембранозной части главного бронха.

Другой ряд причин обусловлен техническими ошибками при выполнении операции. К ним относятся оставление слишком длинной культи, повреждение хряща, наложение некачественных швов, пересечение бронха вблизи бифуркации трахеи, использование сшивающего аппарата (повреждение стенок бронха браншами, а при выделении главного бронха из клетчатки – бронхиальных артерий). Данные ошибки нарушают микроциркуляцию в краях раны и замедляют процессы заживления после операции.

Инфекции и опухолевые процессы также относятся к причинам развития БС. При распространении опухоли на бронх свищ возникает из-за распада тканей. Инфицирование культи бронха приводит к нагноению швов и их несостоятельности. Источником инфекции могут быть абсцессы, каверны,

лимфоузлы, плевральная полость, а также ятрогенные факторы. Сопутствующие заболевания и осложнения, такие как диабет и хронические заболевания легких, длительная интубация трахеи, массивная кровопотеря, повышают риск несостоятельности резецированного бронха. Кроме того, неoadъювантная терапия, в частности химиолучевая терапия, может ещё больше замедлить процесс заживления бронхиальной культы [76, 209].

За последние десятилетия усовершенствованные хирургические методики, антибиотикотерапия и более тщательное послеоперационное наблюдение способствовали снижению частоты несостоятельности анастомозов бронхиальной культы с 28 до 4% [135].

Таким образом, несмотря на сравнительно низкий риск развития бронхоплевральных свищей после различных хирургических процедур, это осложнение может привести к серьезным последствиям и высокой летальности.

1.2. Диагностика свищей верхних дыхательных путей и эмпиемы плевры

Диагностика БС сопряжена с определенными сложностями. У пациентов с данным осложнением наблюдается ряд симптомов: от острого напряженного пневмоторакса до подострой эмпиемы, обычно в течение первых 2 недель после резекции легкого. Несвоевременная диагностика БС в результате несостоятельности швов сегментарных и субсегментарных бронхов приводит к развитию хронической эмпиемы. [49, 221]. В связи с чем, повторные операции приходится выполнять в условиях гнойно-воспалительного процесса, что неблагоприятно влияет на итоговый результат лечения [254].

В целях своевременной диагностики БС и эмпиемы, необходимо обращать внимание на продолжительный сброс воздуха, неспособность поддерживать легкое в раскрытом состоянии, наличие устойчивой остаточной полости, «обкрадывание»

пациента во время активной аспирации, а также стремительное прохождение воздуха через дренажную трубку при учащенном дыхании или кашле.

Выделяют три стадии сбора воздуха: «затянувшаяся», «продленная» и «патологическая». Диагностику и лечебные процедуры следует инициировать, если сброс воздуха через дренажи продолжается в течение трех дней после операции, не дожидаясь проявлений патологического сброса [51].

Ни фибробронхоскопия, ни мультиспиральная компьютерная томография не позволяют в первые 3–5 и даже 7 дней убедительно подтвердить или исключить наличие бронхиального свища. Диагноз «бронхиальный свищ» ставится с учетом совокупности клинических, рентгенологических, а также бронхоскопических данных, на основании которых определяется сброс воздуха из крупного, долевого или сегментарного бронхов в плевральную полость. Специфических лабораторных данных нет, хотя у некоторых пациентов с инфицированием плевральной полости (в следствие БС) может наблюдаться лейкоцитоз или повышенная скорость оседания эритроцитов. Несмотря на то, что признаки свища можно визуализировать посредством рентгенограммы грудной клетки, большинство авторов полагают, что данную патологию лучше оценивать с использованием компьютерной томографии (КТ) [155].

Помимо диагностики, визуализация позволяет оценить степень тяжести свища перед вмешательством и наличие связанных с ним осложнений.

Признаки визуализации свищей могут быть прямыми и косвенными. Прямые признаки относятся к случаям, когда можно ясно визуализировать канал. Возможность непосредственно визуализировать свищ является скорее исключением, чем правилом. В подавляющем большинстве случаев необходимо распознавать и дополнительно исследовать косвенные признаки, такие как неожиданное содержимое плевры и воспалительные изменения по ходу предполагаемого свища или у начала стенки исследуемого органа [137, 201]. КТ грудной клетки, особенно с трехмерной конструкцией, обладает высокой точностью определения локализации фистулы: в одном из исследований

сообщается, что локализация БС определялась посредством КТ у 55% пациентов (Рисунок 1) [196].

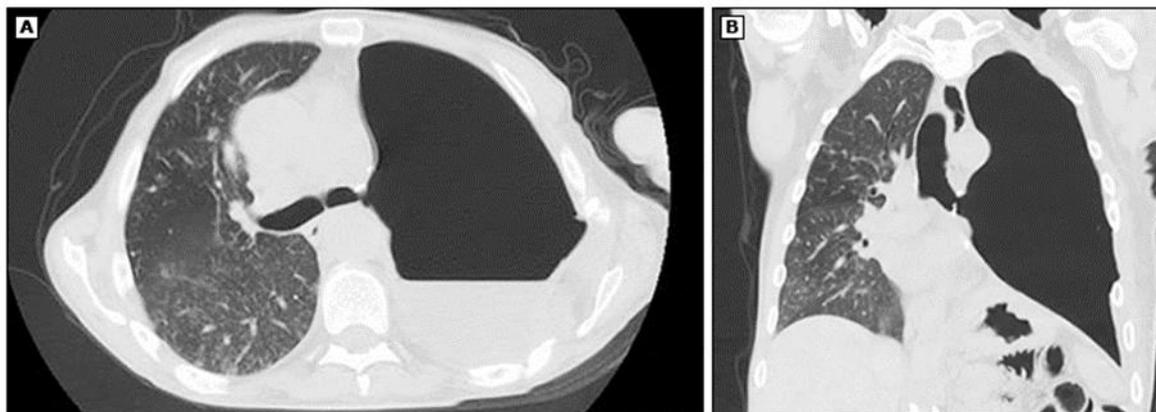


Рисунок 1 – КТ-признаки бронхоплеврального свища

У пациентов, перенесших легочную резекцию, к КТ-признакам свища относятся:

- пневмоторакс, включая признаки напряженного пневмоторакса (например, контралатеральное смещение средостения; признаки напряжения могут отсутствовать при наличии плевральной дренажной трубки)
- пневмомедиастинум и/или подкожная эмфизема
- невозможность заполнения постпульмонэктомического пространства жидкостью (обычно это занимает от одного до четырех месяцев после операции) или снижение уровня жидкости в воздухе с течением времени (>2 см).
- наличие пузырьков воздуха вокруг места операции или культы бронх
- визуализация свища

У пациентов без легочной резекции (например, злокачественный бронхоплевральный свищ), дополнительно могут быть обнаружены особенности основной этиологии (например, кавитирующие массы, соответствующие пропорции уровней жидкости и воздуха).

Несмотря на то, что КТ с внутривенным и специфическим контрастным веществом является предпочтительным методом визуализации для большинства плевральных свищей, многие фистулы имеют сложный характер и маленький размер, могут временно увеличиваться или уменьшаться. Дополнительные методы,

обеспечивающие более высокую чувствительность или более высокую специфичность по локализации свища, имеют в таких случаях значительную дополнительную ценность.

Бронхоскопия играет решающую роль в диагностике и локализации БС. Бронхоскопия позволяет правильно оценить место хирургического вмешательства, размер свища и исключить другие патологии [5]. Данный вид диагностики определяет дефект слизистой оболочки, «пузырение» в месте операции при введении физиологического раствора или его локализацию при инстилляции метиленового синего в плевральную полость через дренажную трубку с одновременной эндоскопической визуализацией красителя в трахеобронхиальном дереве. Однако при значительном отеке тканей оценка дефекта усложняется. В большинстве случаев бронхоскопия позволяет выявить большой свищ, поэтому иногда используется последовательная баллонная окклюзия бронхов, особенно для определения свища меньшего размера или при его дистальной локализации рядом с сегментарным бронхом.

Дифференциальный диагноз. У пациентов, перенесших различные легочные резекции (особенно пневмонэктомию), ярко выраженные симптомы напряженного пневмоторакса почти патогномичны для БС. Несмотря на то, что другие состояния, такие как послеоперационный напряженный хилоторакс или кровоизлияние в плевральную полость, также могут вызывать признаки напряжения, пораженная сторона наполняется жидкостью, а не воздухом. Острые симптомы напряжения также могут быть вызваны смещением или закупоркой плевральной дренажной трубки; обеспечение наличия плевральной дренажной трубки (например, размещение ее на стенке аспиратора, удаление детрита с помощью физиологического раствора, изменение положения или замена) во время получения изображений позволяет отличить это явление от истинного БС.

У пациентов с диагностированной эмпиемой, признаки, свидетельствующие в пользу БС, ассоциированного с эмпиемой, включают наличие воздуха в выпоте и наличие сброса воздуха после установки плевральной дренажной трубки. Посев выпота позволит исключить анаэробную инфекцию (как причину присутствия

воздуха в выпоте). Клиницисты часто путают БС с термином «альвеолоплевральный свищ» (АПС), который представляет собой сообщение паренхимы легкого дистальнее уровня субсегментарного бронха и плевральной полости. АПС также возникает после резекции легкого, но лечение существенно отличается. Соответственно, бронхоскопическое исследование дефекта бронхов позволят отличить БС от других схожих этиологий.

Таким образом, диагностика плевральных свищей может вызывать затруднения, как с клинической, так и рентгенологической точек зрения, учитывая, что свищи развиваются в контексте предшествующего анамнеза, некротизирующей инфекции или агрессивного злокачественного новообразования. И хотя достижения хирургии снизили общую частоту возникновения свищей [40], ожидается, что частота возникновения небольших и рефрактерных плевральных свищей будет только возрастать по мере увеличения количества минимально инвазивных процедур и лучевой терапии грудной клетки. Своевременное распознавание малозаметных рентгенологических признаков и последующее наблюдение посредством более специфичных методов визуализации в значительной степени позволяют предотвратить заболеваемость.

Несмотря на, что БС являются редким осложнением, оно приводит к развитию тяжелых состояний, таких как сепсис и летальный исход. Поэтому раннее выявление данной патологии будет способствовать своевременному лечению.

1.3. Патогенез развития бронхиальных свищей

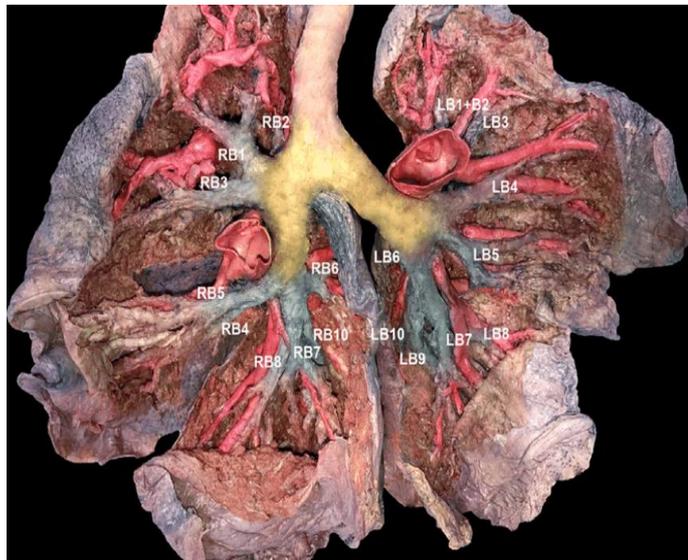
Патогенетические механизмы развития бронхиальных свищей обусловлены несколькими факторами и до конца не изучены.

Прежде всего, это анатомические и морфологические особенности строения бронха: хрящевая плотная часть, которая формирует каркасность органа, и подвижная задняя мембранозная часть. Стенка бронха состоит из слизистой

оболочки, представленной многорядным реснитчатым эпителием, собственной пластинкой и мышечной пластинкой, подслизистой основой, содержащей железы, гиалинового хряща и адвентициальной оболочки. Анатомия и гистология бронха представлены на рисунках 2 и 3. Несостоятельность швов чаще выявляется в мембранозной части органа.

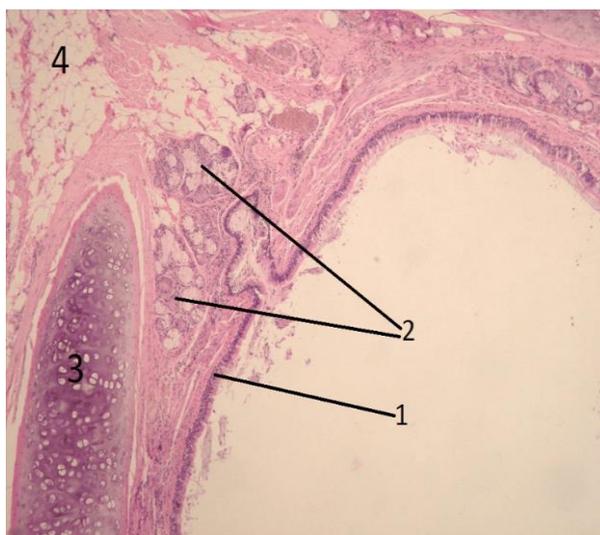
В патогенезе развития немаловажную роль играют хирургические аспекты, поэтому частой причиной бронхиальных свищей является несостоятельность культи бронха.

Исследования показали, что в результате некробиотических изменений, происходящих в стенках оперированного бронха, спустя 7–10 дней после хирургического вмешательства наблюдается размягчение швов. Широкая мембранозная часть (> 14 мм), характерная для главного правого бронха, требует особого подхода при интраоперационной обработке культи. Дефект может сформироваться вследствие перерастяжения. Недостаточная прочность соединения тканей культи приводит к несостоятельности швов. Кроме того, формированию БС после пневмонэктомии способствует отсутствие лёгочной паренхимы, способной закрыть резецированный бронх. [2, 11, 20].



Примечание – Номенклатура (В ×) каждого сегментарного бронха (окрашена синим цветом) отмечена стрелками. Главные бронхи окрашены в желтый цвет, легочные артерии и их ветви – в красный

Рисунок 2 – Анатомическая диссекция, представляющая нормальную анатомию бронхиального дерева [225]



Примечание – 1 – эпителиальная пластинка; 2 – серозно-муцинозные железы; 3 – хрящ;
4 – жировая клетчатка

Рисунок 3 – Гистология бронха

Несостоятельность бронхиальной культи, возникающая после лобэктомии или билобэктомии, обусловлена недостаточным расправлением оставшейся части легкого и образованием полости. Накопившийся в этой полости экссудат взаимодействует со швами, что приводит к их дальнейшему размягчению и вскрытию в бронх, что, в свою очередь, вызывает образование свища. Многие исследователи утверждают, что разгерметизация культи возникает при кашле или глубоком вдохе, что связано с градиентом давления, направленным из трахеобронхиального дерева в оставшуюся плевральную полость. Воздух шунтируется в полость плевры через образовавшееся отверстие, что в дальнейшем приводит к эмпиеме. В свою очередь, экссудат движется в обратном направлении, а его аспирация может спровоцировать развитие острого воспаления легких в противоположном легком. [2, 20]. При травматизации бронхов необходима координация множественных типов клеток во всех слоях в соответствии с точными фазами заживления [252]. Таким образом, в основе возникновения свищей верхних дыхательных путей, как и свищей других локализаций (например, колоректальных свищей), лежит нарушение процессов заживления ткани [19].

Заживление ран представляет собой один из самых сложных процессов в человеческом организме. Этапы гемостаза, воспаления, ангиогенеза,

пролиферации, реэпителизации и ремоделирования происходят в определенной временной последовательности, однако они также могут накладываться друг на друга. Эти процессы влияют друг на друга таким образом, что стимулируют активацию и рекрутирование иммунных клеток, способствуют гомеостазу эпителиальных и эндотелиальных клеток и отложению матрикса с последующей регенерацией тканей [200].

Первой реакцией на травму становится сужение поврежденных кровеносных сосудов и активация тромбоцитов, что приводит к образованию фибринового сгустка, который в свою очередь блокирует кровоток и формирует каркас для поступающих воспалительных клеток, инициируя начальную фазу воспаления. Нейтрофилы немедленно присоединяются к сгустку в качестве первой линии защиты от бактерий. Моноциты рекрутируются в течение 48–96 часов после повреждения и трансформируются в тканеактивируемые макрофаги в месте раны. Затем активируются клетки адаптивной иммунной системы, а именно, Т- и В-клетки, формирующие специфический иммунный ответ.

После того как воспаление стихает, начинается процесс образования новых кровеносных сосудов – ангиогенез. Этот процесс состоит из двух основных этапов: пролиферации и миграции клеток, выстилающих внутреннюю поверхность сосудов – эндотелиальных клеток, которые формируют новые капилляры. Параллельно с этим активируются перициты – клетки, окружающие кровеносные сосуды и расположенные в их базальной мембране (поддерживающей структуре). Активированные перициты создают своего рода каркас, поддерживая и укрепляя новообразованные сосуды, обеспечивая им структурную прочность. Существует гипотеза, что эти активированные перициты на самом деле являются мезенхимальными стромальными клетками, обладающими высокой способностью к превращению в другие типы клеток (пластичностью). Таким образом, ангиогенез – это сложный процесс, включающий не только рост эндотелия, но и активное участие перицитов, которые играют ключевую роль в стабилизации и структурной организации новых сосудов. Установлено, что в дополнение к местным клеткам циркулирующие прогениторные клетки из костного мозга, также, поддерживают

образование новых кровеносных сосудов во время заживления ран [58, 163, 176, 252, 253].

В формировании новых кровеносных сосудов участвуют несколько типов клеток, при этом большая часть клеточного разнообразия происходит в периваскулярном пространстве. Уже известно, что адгезия эндотелиальных клеток к внеклеточному матриксу (ВКМ) через интегрины важна для пролиферации, миграции и сборки внутри сосудов. Однако присутствие как ВКМ, так и фибробластов необходимо для формирования кровеносных сосудов, поскольку фибробласты обеспечивают поддержку ангиогенеза посредством ремоделирования ВКМ и доставки ряда сигнальных молекул [108]. Таким образом, фибробласты в этом процессе играют одну из ключевых ролей. В одном из исследований наблюдалась увеличенная выживаемость эндотелиальных клеток в модели совместной культуры эндотелиальных клеток с фибробластами *in vitro*. Было установлено, что ангиогенез стимулируется как фибробластами, так и средой, кондиционированной фибробластами, что свидетельствует о паракринном механизме стимуляции [244]. Фибробласты влияют на формирование сосудов посредством продукции ряда молекул, включая фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF), фактор роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor, HGF), Фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor, FGF), ангиопоэтин-1 (Ang-1), ангиопоэтин-2 (Ang-2) и IL-8 [108, 173, 218, 227, 244].

По мере появления новых кровеносных сосудов резидентные фибробласты пролиферируют и синтезируют белки ВКМ, такие как коллаген, фибронектин, образуя грануляционную ткань. Некоторые фибробласты дифференцируются в миофибробласты, вызывая контракцию раны. Считается, что формирование грануляционной ткани является терминальной реакцией, вызванной воспалением [200].

Синтезируемые фибробластами компоненты ВКМ играют важную роль в поддержании гомеостаза тканей. Ремоделирование ВКМ регулируется с помощью различных механизмов, включая синтез белков ВКМ, посттрансляционные модификации, и деградацию матрикса. Эти события контролируют состав ВКМ, его

динамическую организацию в трехмерные структуры и его биохимические свойства. Изменение экспрессии и отложения компонентов ВКМ влияет на его содержание и относительный состав, тем самым дифференцированно воздействуя на клетки.

Помимо обеспечения каркаса для адгезии и миграции клеток, ВКМ служит резервуаром для факторов роста и других медиаторов. FGF, VEGF, HGF и инсулиноподобный фактор роста (insulin-like growth factor, IGF), среди прочих, могут быть обнаружены в составе ВКМ, где они могут ассоциироваться с матриксными белками или гепарансульфатом [200]. Высвобождение этих медиаторов зависит от деградации ВКМ с помощью протеиназ, принадлежащих к семействам матриксных металлопротеиназ (matrix metalloproteinase, MMP), адамализинов, а также цистеиновых и сериновых протеаз [A. Hedrix et al, 2017]. Семейство MMP включает более 30 цинкзависимых эндопептидаз, продуцируемых фибробластами, тканевыми макрофагами, эпителиальными клетками и другими клетками. MMP секретируются вместе с тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (tissue inhibitor matrix metalloproteinase, TIMP) в соотношении 1:1, и их активность зависит от относительной концентрации и пространственной локализации этих ингибиторов. Помимо MMP, фибробласты выделяют лизилоксидазу, которая также способствует разрушению ВКМ, тем самым способствуя инвазии клеток в поврежденные ткани и влияя на жесткость и пористость тканей [147].

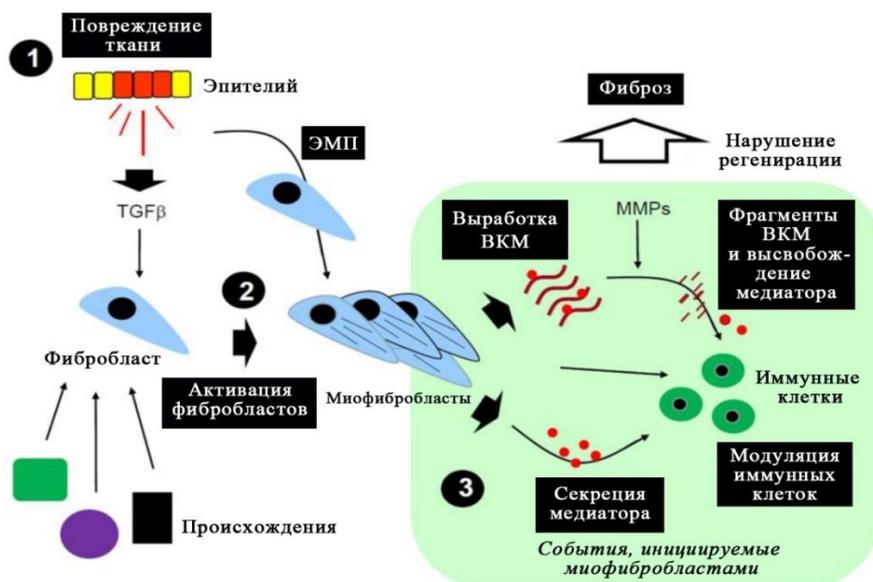
Следовательно, помимо синтеза компонентов ВКМ фибробласты секретируют биоактивные медиаторы, способствуют их высвобождению путем ремоделирования ВКМ с помощью MMP. При этом высвобождаемые биоактивные молекулы действуют паракринным образом, влияя на функции других клеток.

Многочисленные исследования подтвердили, что фибробласты также участвуют в иммунной регуляции. Антигенпрезентирующие клетки, такие как дендритные клетки, активируют наивные Т-клетки, стимулируют иммунные реакции в зависимости от представленного антигена. Эти события частично модулируются ВКМ, в который погружены эти клетки. Фактически, компоненты

ВКМ, синтезированные фибробластами, и сами фибробласты помогают создать микросреду, которая влияет на иммунный ответ [90].

Раневые фибробласты также секретируют провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли и интерлейкины, а также хемокины СС и СХС, которые служат для привлечения нейтрофилов, моноцитов и макрофагов на пораженные участки [73, 171].

Фибробласты участвуют в трех важных процессах: (1) образование ВКМ и его ремоделировании, (2) выработки растворимых биоактивных медиаторов и (3) регуляции иммунных клеток [200]. На рисунке 4 представлены основные механизмы действия фибробластов. Повреждение ткани приводит к оголению и разрушению базальной мембраны (БМ). Эпителий (желтый) разрушается и активируется (оранжевый) и начинает вырабатывать провоспалительные медиаторы, которые привлекают иммунные клетки (зеленые). И эпителиальные, и иммунные клетки продуцируют растворимые медиаторы, которые привлекают и активируют резидентные и поступающие клетки в поврежденные ткани. Фибробласты (зеленые) производят внеклеточный матрикс, который обеспечивает каркас для реэпителизации оголенных базальных мембран [200].



Примечание – ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход, ВКМ – внеклеточный матрикс, ММР – матриксная металлопротеиназа

Рисунок 4 – Основные механизмы действия фибробластов

Соответственно, результатом действия фибробластов является создание условий для формирования эпителия и завершения воспаления формированием грануляционной ткани. Процесс заживления поврежденной ткани верхних дыхательных путей призван восстановить не только целостность бронха, но и защитную функцию за счет формирования эпителия.

Процесс реэпителизации происходит двумя основными путями, включающими пролиферацию унипотентных эпителиальных стволовых клеток, а также дедифференцировку терминально дифференцированных эпителиальных клеток. И хотя эпителиальные стволовые клетки, как правило, унипотентны, в условиях повреждения они проявляют удивительную пластичность и могут дать начало образованию других типов клеток для быстрого восстановления эпителия в процессе заживления ран. Эпителизация раны начинается с ее краев на сформированной базальной мембране.

Одним из ключевых моментов заживления является восстановление микроциркуляции и питания ткани. Поэтому нарушение микроциркуляции лежит в основе патогенеза развития свища и приводит к ишемическому некрозу стенки бронха, скоплению секрета и развитию бактериальной инфекции [19].

Таким образом, риск возникновения БС можно снизить путем улучшения васкуляризации культи и применения малотравматичных методик наложения анастомоза. Использование клеточной терапии, направленной на стимуляцию регенеративных процессов, включая неоангиогенез, призвано оказать благоприятное воздействие на состоянии культи бронха.

1.4 Факторы риска развития бронхиальных свищей

Свищ обычно обнаруживается на культе рядом с остаточной долей вследствие повышенного риска развития ишемического некроза или скопления секрета, приводящего к избыточному бактериальному росту и колонизации. На

частоту развития фистулы влияют различные анатомические и технические особенности, а также факторы риска, ассоциированные с индивидуальными особенностями пациента. Согласно исследованиям, правосторонняя пневмонэктомия ассоциируется с четырех- и даже пятикратным увеличением частоты развития БС, по сравнению с левосторонней пневмонэктомией. Повышенный риск развития свищей справа обусловлен необходимостью более обширной резекции. [76, 133, 155].

Также ряд авторов связывают данную тенденцию с анатомическими различиями между правым и левым главным бронхами [92, 189]. Культя правого бронха после пневмонэктомии минимально укрыта средостением по сравнению с культей левого бронха, которая при правильной форме заходит под аорту в средостение (Рисунок 5).

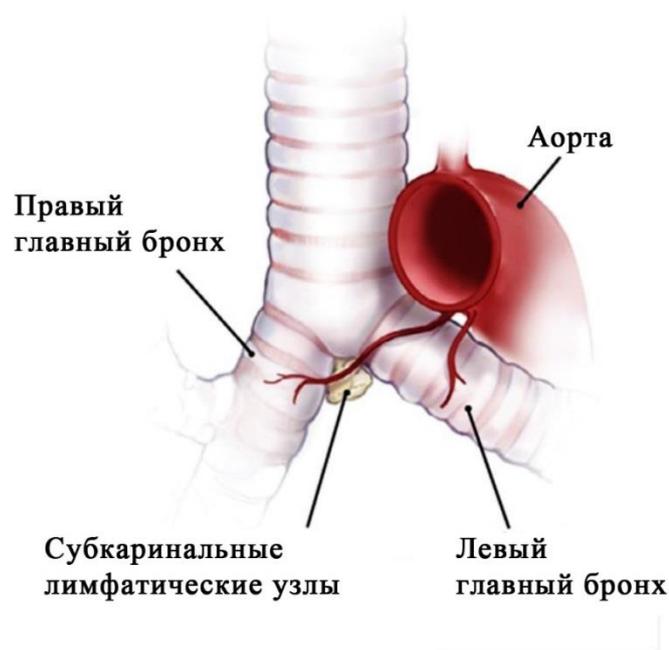


Рисунок 5 – Анатомия трахеобронхиального дерева

Правый главный бронх расположен более вертикально, по сравнению с левым, из-за чего в культе бронха скапливается секрет. Кровоснабжение левого главного бронха осуществляется за счет большого количества ветвей от аорты, так как бронх проходит позади ее дуги. Тогда как кровоснабжение правого главного бронха осуществляется ветвями от сосудов, идущих к трахее, которые проходят в

субкаринальном пространстве, из-за чего они легко травмируются при диссекции и удалении лимфатических узлов [133].

За последнее время было проведено несколько крупных исследований, посвященных выявлению факторов риска развития бронхиальных свищей. Японские исследователи выделяют две основные группы причин развития бронхиальных свищей: хирургические и нехирургические.

К факторам риска, связанными с хирургией, относят опыт хирурга, способ укрытия культи бронха, диссекцию лимфатических узлов, остаточную опухоль на культи бронха, сторону операции, укрепление культи, резецируемую долю. К нехирургическим факторам относят: возраст, пол, предоперационный период и анамнез [234].

Сводная таблица факторов риска развития бронхиальных свищей представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Факторы риска развития бронхиальных свищей

Анатомические	Хирургические	Системные	Локальные	Прочие
Пневмонэктомия справа	Деваскуляризация культи бронха	Плохое питание	Неоадьювантная терапия	Постоперационная механическая вентиляция
Лобэктомия правой средней и/или нижней долей	Длинная культи бронха	Сепсис	Плохое кровоснабжение	Использование стероидов
	Техника закрытия культи	Иммуносупрессия	Активный инфекционный процесс	Правая пневмонэктомия
	Остаточная карцинома по краю бронха	Сахарный диабет	Длинная культи бронха	Ручное ушивание культи бронха
	Деваскуляризация культи бронха	ХОБЛ	Расширенная лимфаденэктомия	Трахеостомия
	Длинная культи бронха	Анемия	Резидуальный или рецидивирующий рак культи бронха	Курение

В одной из современных классификаций известные клинические факторы риска развития послеоперационных бронхиальных свищей делят на три категории с учетом клинического состояния пациента до операции и технических особенности выполненной хирургической процедуры на системные, локальные и прочие. Сахарный диабет и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) являются независимыми факторами риска послеоперационного развития фистул [91].

Возраст (>70 лет), анемия, респираторный дистресс-синдром взрослых, плохое питание, гипоальбуминемия, системное применение стероидов, эмпиема, неоадьювантная химиотерапия или лучевая терапия и трахеостомия также описывались как факторы риска развития БС в различных статьях [76, 234].

По результатам ретроспективного исследования с участием 8 пациентов с БС, прооперированных по поводу рака легкого, ХОБЛ являлась значительным фактором риска развития БС в послеоперационном периоде [59].

В другом исследовании авторы оценивали сопутствующие заболевания, такие как диабет, ХОБЛ и ишемическую болезнь сердца, используя индекс коморбидности Чарлсона (CCI), и обнаружили, что $CCI \geq 2$ был независимым предиктором возникновения свищей после бронхопластики. Это говорит о том, что пациенты с показателями CCI 2 или выше, перенесшие лобэктомию правой средней и/или нижней долей с остаточной опухолью края бронха, находятся в зоне повышенного риска развития БС [179].

В крупном ретроспективном обсервационном исследовании с участием 3180 пациентов, перенесших лобэктомию, у 14 пациентов развились свищи. Все пациенты были мужчинами, перенесшими нижнюю лобэктомию справа, что позволяет предположить, что мужчины и пациенты, перенесшие нижнюю лобэктомию справа, подвергались повышенному риску развития БС. Многофакторный анализ в этой подгруппе, показал, что высокий уровень сывороточного С-реактивного белка и перенесенное хирургическое вмешательство по поводу рака желудка в анамнезе также ассоциировались в значительной степени с развитием БС [198].

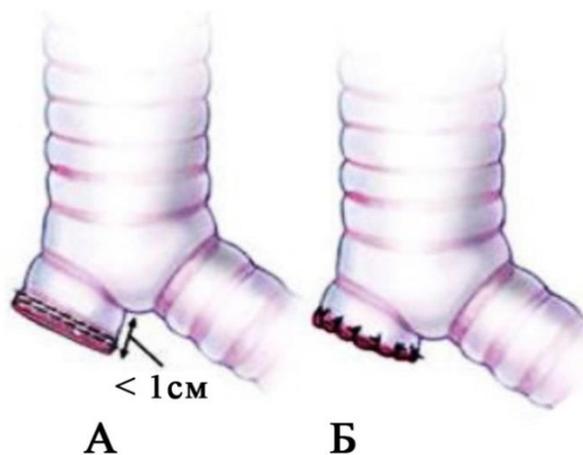
Согласно ряду исследований, посвященных изучению факторов риска развития БС после хирургического лечения рака легкого, чрезвычайно важна степень кровоснабжения культи бронха после операции. Таким образом, кровоснабжение культи бронха сильно влияет на его заживление в послеоперационном периоде. Также к факторам риска развития БС относят лимфодиссекцию и химиолучевую терапию [76, 234]. Лимфодиссекция инициирует блокировку кровеносных сосудов, расположенных вокруг бронха. Кроме того, предоперационное лечение, и особенно химиолучевая терапия, приводят к фиброзу перибронхиальной ткани посредством снижения объема кровотока и ее дезагрегации. Однако ряд исследователей считают, что максимальное сохранение перибронхиальной ткани при выполнении лимфаденэктомии, независимо от степени диссекции позволит сохранить приток крови к культе [133, 188]. Другие авторы полагают, что описанный выше метод может привести к тому, что раковые клетки останутся в перибронхиальной ткани. В этом случае остается лишь надеяться, что клетки уже были убиты предоперационной химиолучевой терапией и отдать приоритет профилактике развития фистул [150].

Сосудистое кровоснабжение линии шва осуществляется от нисходящей грудной аорты через средостение и снижается после диссекции медиастинальных лимфатических узлов [120]. Ишемия бронха после лимфаденэктомии вследствие снижения микроваскуляризации отрицательно влияет на заживление культи [120, 188]. Биопсия сигнальных лимфоузлов вместо полной лимфаденэктомии, приводящей к деваскуляризации культи бронха, может обеспечить адекватный приток крови к культе [137]. В этом случае необходима особая техника рассечения, так как предотвращение деваскуляризации бронха во время диссекции лимфатических узлов может снизить частоту возникновения свищей [145, 188;].

Согласно данным национальной клинической базы Японии, интерстициальная пневмония, расстройства центральной нервной системы, аутоиммунные заболевания и курение являются факторами риска развития БС [197]. В другом японском исследовании единственным фактором риска образования БС, выявленным с помощью многофакторного анализа у пациента,

перенесшего лобэктомию, был диабет ($HbA1c \geq 8,0$) [234]. Более того, хотя облитерирующий атеросклероз не был выявлен при многомерном анализе, он также являлся возможным фактором риска. Другие авторы также выделяют диабет в качестве одного из факторов риска развития БС в послеоперационном периоде [59, 75]. И диабет, и облитерирующий атеросклероз имеют отношение к кровотоку, что подтверждает то, что адекватное кровоснабжение необходимо для заживления культи бронха.

По результатам крупного исследования с участием 2614 пациентов, которым была выполнена пневмонэктомия по поводу рака легкого, авторы пришли к выводу, что необходимо выполнять предоперационную коррекцию гомеостаза и лечение сопутствующих заболеваний, а также осложнений опухолевого процесса [22]. Интраоперационно следует в обязательном порядке проводить профилактику раневой инфекции. При этом техника обработки культи бронха значения не имеет, но культя не должна быть длинной и ее следует укрывать. Однако на такие факторы риска как лимфодиссекция и, в ряде случаев, неоадьювантная химиотерапия повлиять невозможно. [22, 18, 45]. Некоторые авторы рекомендуют оставлять культю менее 1 см (Рисунок 6) [220].



Примечание – А) культя бронха должна быть менее 1 см. После осмотра, при условии достаточной длины, она может быть закрыта с использованием степлера; Б) при сильном воспалительном процессе культя ушивается.

Рисунок 6 – Культи бронха менее 1 см

Помимо вышеуказанных причин, на заживление БС влияют факторы, связанные с индивидуальными особенностями пациента, сопутствующими заболеваниями и ранее проведенным лечением. Например, онкология, лучевая терапия, возраст пациента, статус курильщика и ряд других. Согласно различным исследованиям, риск образования дефекта выше у пациентов с длительной интубацией трахеи и массивной интраоперационной кровопотерей [76, 234].

Вышеперечисленные результаты различных исследований подчёркивают важность предоперационной оценки, а также грамотного интраоперационного ведения данной патологии во избежание катастрофических последствий.

1.5. Влияние техник наложения анастомоза и шовного материала

В настоящее время торакальными хирургами используются два метода обработки культи бронха: ручной шов (формирование с помощью отдельных узловых или одного непрерывного шва) и механический [21]. Технические ошибки при выполнении операции могут привести к нарушению микроциркуляции краёв раны и стать препятствием к нормальному заживлению первичным натяжением.

Процессы заживления в области бронхиального анастомоза в большой степени зависят от выбора шовного материала. Неправильный выбор шовного материала может являться причиной различных осложнений, в том числе причиной развития свищей в послеоперационном периоде. Свойства шовного материала и их влияние на заживление рассматривались на различных экспериментальных моделях еще в конце XX века. Предметом изучения были такие материалы как викрил, нейлон, полипропилен, дексон и др. [129, 170]. Ученые сделали заключение, что рассасывающийся материалы дексон и викрил имеют преимущества перед нерассасывающимися материалами нейлоном и проленом: использование нерассасывающихся материалов в послеоперационном периоде способствовало образованию стенозов [129]. Согласно результатам исследования,

в котором анализировали свойства дексона, викрила, мерсилена и пролена на 24 кроликах и 6 собаках, рассасывающиеся швы на основе дексона и викрила вызывали меньшую тканевую реакцию, в то время как применение мерсилена приводило к активному образованию грануляционной ткани, и, как следствие, к абсцедированию [202]. В другом исследовании говорится о том, что рассасывающиеся швы (викрил) менее склонны к появлению грануляций [117]. По мнению Н. Peleg, монофиламентные швы следует использовать с осторожностью при бронхиальном анастомозе, так как их щетинистые узлы могут перфорировать соседние кровеносные сосуды [178]. По результатам экспериментального исследования авторы пришли к выводу, что шовный материал в-лок имел пониженную прочность по сравнению с биосином [166].

Другой, не менее важный аспект данной проблемы, – техника выполнения операции и наложения анастомоза.

На сегодняшний день не существует «золотого стандарта» относительно техники наложения анастомоза. Доказательств в пользу той или иной методики недостаточно. Учитывая тип шва, расположение двух краев бронхов друг относительно друга и толщину бронхиальной стенки, взятой в шов, можно использовать различные техники наложения анастомоза. Такие как непрерывный циркулярный или отдельные узловые швы, анастомоз «конец в конец», телескопическая техника или инвагинационный анастомоз, использование непрерывного шва на мембранозной стенке, а узловых – на хрящевой частях или наоборот [174].

Несостоятельность анастомоза может прогрессировать до развития бронховаскулярной фистулы с катастрофическими последствиями. В попытке снизить риск развития данного осложнения рекомендуется ряд профилактических мер: сохранение васкуляризации бронхов, сохранение перибронхиальной клетчатки, сохранение бронхиальных артерий, ветвей блуждающих нервов, наложение анастомоза без натяжения и наложение шва лоскутом на сосудистой ножке из хорошо васкуляризированной ткани. Натяжение шва и несоответствие размеров просветов двух бронхов являются наиболее сложными проблемами при

безопасном наложении анастомоза. Для уменьшения натяжения линии шва обычно применяют мобилизацию трахеи и главного бронха, пересечение легочной связки и циркулярную резекцию перикарда вокруг корня. Для компенсации неравенства просвета можно использовать несколько методов. В большинстве случаев хорошие результаты можно получить при использовании отдельных узловых швов или телескопической техники [174].

Широкое применение, как в нашей стране, так и за рубежом получила методика формирования анастомоза отдельными узловыми швами [125, 172]. К достоинствам методики, можно отнести способность обеспечивать высокую точность в сопоставлении соединяемых тканей, а также поддерживать кровоснабжение [37]. Основными недостатками данной техники являются высокая трудоемкость процесса формирования и значительное потребление шовного материала.

Циркулярный непрерывный шов описывался в немногочисленных публикациях. Еще в XX-ом веке описывали удовлетворительные результаты (несостоятельность была отмечена в 2% случаев) и относительную быстроту выполнения данной техники. Однако отмечалась возможность нарушения кровоснабжения краев раны по линии шва, что приводило к развитию БС [139]. Кроме того, его тенденция к «складчатости» может привести к образованию рубца или развитию стеноза, а при повреждении шва на любом участке – к несостоятельности всего анастомоза. Несмотря на то, что многие торакальные хирурги отдают предпочтение анастомозу «конец в конец», эта методика вызывает сложности в связи с несоответствием краниального и каудального диаметра сопоставляемых бронхов. Инвагинационный способ формирования анастомоза применяется не столь широко [164, 174]. Технические особенности формирования анастомоза подробно описывались в некоторых работах [17]. Согласно автору, инвагинационный способ формирования межбронхиальных анастомозов отличается простотой технического исполнения и сопровождается удовлетворительными непосредственными результатами; число

послеоперационных осложнений (19,4%) и летальность (4,8%) после обычной лобэктомии.

Телескопическая техника использовалась рядом авторов при выполнении пластики бронхов, однако другие авторы отмечали вероятность образования послеоперационных стриктур. Широкое применение реконструктивных операций на бронхиальном дереве в современном исследовательском поле сопровождается недостатком данных, касающихся сравнения различных техник. В рамках ограниченного числа публикаций, посвященных оценке эффективности этих методов, можно отметить исследование, в котором участвовали две группы пациентов: в одной из них (20 человек) накладывался анастомоз типа «конец в конец», а во второй группе (40 человек) – телескопический анастомоз. По итогам исследования достоверных различий в группах не наблюдалось [174].

1.6. Методы профилактики развития бронхиальных свищей

Многие отечественные и зарубежные авторы в качестве профилактики развития БС у пациентов предпочитали накладывать анастомоз с использованием лоскута на сосудистой ножке [25, 33, 149]. Эта рекомендация основана на патофизиологических исследованиях, демонстрирующих врастание капилляров лоскута в подслизистую бронха [149].

Одной из первых считается техника, предложенная М. И. Давыдовым. Она заключалась в надсечении середины хрящевого полукольца до подслизистой, погружение в просвет культи бронха мембранозной части с формированием дубликатуры. После этого стенки культи бронха прошивались с захватом дубликатуры мембранозной части. Осложнения при этой методике наблюдались у 6 % пациентов [10]. Позже А. Х. Трахтенберг и соавт. предложили использовать методику ручной обработки бронхов после пульмонэктомии и резекции легкого, при которой частота развития послеоперационных бронхоплевральных

осложнений снизилась с 7,9 до 1,8 % [46]. В более современных работах описывали методику превентивной диафрагмопластики культи правого главного бронха. У 3 (2,6 %) из 114 пациентов развился бронхиальный свищ, еще у 5 (4,4 %) пациентов эндоскопически отмечалась несостоятельность культи бронха, однако ни у одного из них бронхиальный свищ не сформировался [50]. В другом исследовании анализировалась эффективность применения оментопластики для профилактики развития БС. Несостоятельность культи правого главного бронха составила 5,3 % при использовании предложенной методики, тогда как без применения оментопластики – 17,7 %, летальность отсутствовала [25].

Отечественные авторы разработали методику закрытия культи бронха имплантатами на основе никелида титана (TiNi). Осложнения составляли 4,2 % [41].

Многие отечественные авторы анализировали эффективность бронхопластики лоскутом перикарда и диафрагмальным лоскутом, при которых частота осложнений достигала 2,8-4,7 % [12, 20, 33]. В ретроспективном исследовании с участием 224 пациентов пришли к выводу, что превентивная эзофагомиобронхопластика – верный способ профилактики развития БС после пульмонэктомии по поводу рака легкого. Согласно авторам, им удалось снизить показатель осложнений в виде несостоятельности швов культи бронха до 0 %, а эмпиемы плевры – до 1,3 % [33]. В клиническом исследовании описывалась техника применения ксеноперикарда в сочетании с ВАП для устранения эмпиемы плевры в сочетании с БС 2022г. [34]. Зарубежные авторы также приводят описание случая применения ВАП для лечения БС, который развился через 2 недели после нижней лобэктомии справа [165].

В одном из немногих рандомизированных исследований авторы сообщили о потенциальном преимуществе методики укрытия культи бронха лоскутом межреберных мышц у пациентов с диабетом. Они обнаружили более низкую частоту развития БС в группе из 68 пациентов, у которых после пневмонэктомии культи бронха укрывалась лоскутом межреберных мышц. Эффективность техники подтверждается одномерным, но не многомерным анализом [75]. Также в другом исследовании использовали индоцианиновую зеленую флуоресценцию во время

операции для идентификации ишемизированного участка лоскута межреберной мышцы. Они пришли к выводу, что поддержка культы бронха лоскутом малоперфузируемой ткани может отрицательно повлиять на процесс заживления [128].

Несмотря на то, что все описанные методики подтвердили свою результативность в клинической практике, ни одна из них не демонстрирует абсолютное превосходство при оценке частоты образования несостоятельности культы бронха и развития свищей. В некоторых центрах хирурги не укрывают анастомоз даже после неоадьювантного облучения, утверждая, что при тщательном обеспечении проходимости дыхательных путей и сохранении перибронхиальной ткани дополнительное укрепление анастомоза не требуется [197, 217]. Таким образом, профилактика развития БС включает в себя несколько хирургических методов, которые потенциально могут улучшить заживление культы бронха, такие как укрепление культы бронха хорошо перфузируемыми тканями, например, лоскутом межреберных мышц, париетальной плеврой или жировой тканью перикарда. Несмотря на популярность данных техник выбор лучшего поддерживающего материала, а также реальная польза от укрытия культы бронха остаются спорными. По данным недавно проведенного исследования ни одна из тканей, используемых для укрепления бронхов, существенно не снижала частоту возникновения БС. Более того, ограничение количества межреберных мышечных лоскутов и жирового покрытия перикарда не привело к увеличению частоты развития БС за последнее десятилетие [209].

1.7. Способы лечения бронхиальных свищей

Для лечения свищей используются консервативные, эндоскопические, а также хирургические методики. Все они направлены в первую очередь на борьбу с гнойно-деструктивными процессами и устранение свища. Лечение эмпиемы

плевры, возникшей после пневмонэктомии, включает в себя хирургическую обработку пораженной области и подбор антимикробной терапии, основанной на результатах анализа чувствительности микроорганизмов, выделенных из экссудата, к антибиотикам [209, 234]. Многие специалисты считают, что небольшие фистулы диаметром до 5 мм способны к самостоятельному закрытию при условии эффективного лечения гнойно-септических осложнений. Для лечения таких БС также применяется консервативная тактика, включающая установку стентов Дюмона, применение клеевых составов и клеточных технологий, использование сосудистых окклюдеров, физиотерапевтические и химические методы локального воздействия. Эффективность лечения в таких случаях варьирует от 45 до 98% [66, 112, 155, 234; 247]. Во многих работах описывались положительные результаты лечения при использовании консервативных методов у 26–44% пациентов [63, 66, 118, 155, 172]. Тем временем, эффективными (60–70%) оказались разнообразные герметизирующие вещества, электрокоагуляция, лазерная терапия, прижигания трихлоруксусной кислотой и нитратом серебра. Так, в нескольких публикациях сообщалось об успешного закрытии свищей большего диаметра посредством различных устройств, например, «лепестка» для очистки биопсийного канала бронхоскопа [240] или устройства для закрытия дефекта межпредсердной перегородки «амплацер девайс» [64, 131]. Некоторые авторы заявили о возможности закрытия БС диаметром до 8мм с помощью эндоскопических методов с использованием различного вида герметиков, трахеальных стентов, эндобронхиальных устройств и методов склеротерапии [20].

В таблице 2 представлен обзор современных методик эндоскопического лечения бронхиальных свищей, анализ их преимуществ и недостатков. Результаты исследований различных методов эндоскопического лечения свищей были найдены в базах данных E-library, PubMed, Sci-Hub, Google Scholar, Wolters Kluwer, CNKI, VIP и Wanfang, исследования со схожими и повторяющимися выводами были исключены из обзора. Включенные исследования наилучшим образом отражают текущий статус и прогресс при эндоскопическом лечении свищей, обладают репрезентативностью и надежностью.

Таблица 2 – Сравнительный анализ современных методов лечения свищей верхних дыхательных путей

	Методика	Авторы	Преимущества	Недостатки
1	Эндобронхиальный назальный бронхиальный лаваж	Ning (2017)	малоинвазивный и безопасный метод, особенно эффективный при лечении бронхоплевральных свищей после лобэктомии диаметром более 5 мм. Время процедуры 10-15 мин	побочные реакции, включая кашель, тошноту и боль в горле
2	Склерозирующие агенты			
	<i>Этоксисклерол</i>	Ge (2006), Y. Qin (2020)	при диаметре свища меньше 6 мм вероятность успешного закрытия остается относительно высокой, небольшое количество осложнений и отличная окклюзия	при свищах диаметром более 3 мм количество инъекций может значительно увеличиться
	<i>Этанол</i>	Abramian (2021)	отсутствие рубцов, низкая частота рецидивов и меньшее количество осложнений по сравнению с традиционной хирургией	необходимость наличия у оператора высокого профессионализма в области бронхоскопии; риск повреждения организма, риск развитие ишемии и некроза; и катастрофическое повреждение прилегающих кровеносных сосудов в случае неправильной инъекции
	<i>Этаноламин олеат</i>	Rivo (2019), Alcaraz (2021), Varoli (1998), Jiangnan (2023)	небольшие (<1 см) БС, быстрое обезвоживание и рубцевание тканей	необходимость контроля риска возникновения инфекции до лечения, адекватный дренаж, многократные инъекции во время лечения и повторные однократные, а также многократные инъекции
3	Гемостатические агенты			
	<i>Фибриновый клей</i>	Галлямов (2022), Tang и Rong (2011)	минимальная травматичность, низкий % осложнений и рецидивов, подходит для свищей диаметром менее 5 мм	необходимо использовать супрессанты для подавления кашля, чтобы предотвратить отпадение спаячного блока при приступе кашля

Продолжение таблицы 2				
	Методика	Авторы	Преимущества	Недостатки
	<i>Гидрогель</i>	И. Бабич (2018), Beckmann (2018) и Shahrouki (2021)	биосовместимость, гемостаз, обладает свойствами, способствующими регенерации тканей, и широко используется в области биомедицины	малое количество исследований
	<i>Мгновенный медицинский клей (на основе а-цианакрилата)</i>	Battistoni (2017), Lin (1999)	обладает хорошей совместимостью с тканями, нетоксичен и может постепенно разлагаться и абсорбироваться, эффективен при свищах менее 5 мм, прост в реализации и практически безболезнен для пациентов	не доказана терапевтическая эффективность для пациентов с бронхоплевральными свищами диаметром более 5 мм
4	Лазерная терапия	Santos (2021)	новый неинвазивный, экономически выгодный и эффективный метод лечения свищей после лобэктомии, применим к пациентам с диаметром свища менее 2 мм	из-за частого инфицирования культи бронхов, инфекций органов грудной клетки или развития сильного плеврального выпота у пациентов с БС клиническое применение лазерной терапии ограничено
5	Криотерапия	Zhao (2021)	минимальная травматичность, низкая стоимость и безопасность	требует точной установки температуры, времени и частоты замораживания
6	Химические субстанции			
	<i>100% карболовая кислота</i>	Wang (2015)	простота реализации, комфорт пациента и отсутствие необходимости в госпитализации, подходит для пациентов с диаметром свища <7 мм, плохим общим состоянием и тех, кто не способен перенести хирургическое вмешательство	могут возникнуть трудности с заживлением, если размер свища превышает определенный порог, не слишком большой объем впрыска на начальном этапе; в противном случае кислота может попасть на соседние нормальные ткани, возможен кашель, из-за чего химические вещества могут попасть в долевые и главные бронхи. Необходимо точное определение локализации свища

Продолжение таблицы 2

	Методика	Авторы	Преимущества	Недостатки
	<i>3% трихлоруксусная кислота</i>	Е. Дробязгин (2020), Yu, Valero Mamani RJ (Испания, 2022), Maria Francisca Teixeira Lopes (2016)	Минимально инвазивная, безопасная и простая техника	Небольшой размер свища, малое количество исследований
7	Биологические материалы		удобный сбор материала, легкость выделения и культивирования, низкая иммуногенность, возможны множественные методы трансплантации, не вызывает отторжения	находится на экспериментальной стадии, в то время как медицинские заключения по клиническому применению немногочисленны, а данных многоцентрового и долгосрочного наблюдения по-прежнему не хватает
	<i>Мезенхимальные стволовые клетки из жировой ткани</i>	Díaz-Agero Álvarez (2016), Bottoni (2021)	подходит для БС диаметром более 8 мм, высокая биосовместимость, не вызывает отторжения	существует недостаточно доказательств, подтверждающих терапевтическую эффективность и механизм действия МСК.
	<i>Аутологичная кровь</i>	Chen и Gong (2019)	оказывает хороший блокирующий эффект на микро БС, содержит большое количество факторов свертывания крови, фибриногена и фибронектина, способствующих слипанию разрывов плевры, экономически выгодна, не требует сложных материалов, прост в реализации, подходит для пациентов не способных перенести общий наркоз и операцию	побочные реакции, такие как преходящее снижение PaO ₂ и легкая лихорадка

Продолжение таблицы 2

	Методика	Авторы	Преимущества	Недостатки
	<i>Плазма, обогащённая тромбоцитами</i>	Siddique (2022)	представляет собой препарат аутологичной сыворотки, содержащий большое количество тромбоцитов и наносимый на ткани для высвобождения богатых факторов роста и ускорения заживления за счет увеличения производства коллагена и фибробластов, способствует восстановлению и регенерации тканей	
	<i>Заглушка для закрытия свища</i>	Sakata (2018)	действуют как каркас для фибробластов, способствуя естественному росту тканей, клеточной пролиферации и заживлению, а также помогает восстановить поврежденные ткани	может вызывать риск смещения, малая изученность и разработанность метода
8	Трахеальные стенты	В. Паршин (2013)	способны закупорить свищ, эффективно изолируя путь между дыхательными путями и инфицированной плевральной полостью, тем самым отсекая источник инфекции.	осложнения в виде закупорки слизи, раздражающего кашля, миграции и сильного ощущения присутствия инородного тела
	<i>Полностью покрытый саморасширяющийся металлический стент</i>	Li (2013), Cao (2019)	большой опыт использования стентов различных форм, высокая степень изученности преимуществ и осложнений, может использоваться при длинной культе бронха	увеличенная площадь контакта между стентом и слизистой оболочкой трахеи может повлиять на функцию фиброзных столбчатых эпителиальных клеток слизистой оболочки дыхательных путей и, в тяжелых случаях, привести к задержке мокроты и инфицированию легких, риск смещения, необходимость удаления стента
	<i>Силиконовый стент</i>	Zeng (2021), Schweiger (2018)	применим для лечения стеноза дыхательных путей, эффективно блокирует фистулу, устраняет утечку воздуха в дыхательные пути и улучшает затрудненное дыхание	кашель и боль в груди после операции, однако эти симптомы можно подавить посредством введения препаратов, подавляющих кашель и использования схем обезболивания.

Продолжение таблицы 2

	Методика	Авторы	Преимущества	Недостатки
9	Окклюзионные устройства			
	<i>Сердечные окклюдеры</i>		обладают хорошей биосовместимостью, способствуют росту грануляционной ткани трахеи и дополнительно усиливают окклюзионный эффект, свищи до 12 мм, нет необходимости удалять окклюдер дефекта межпредсердной перегородки после имплантации	схема лечения интервенционной терапии БС окклюдерами еще не установлена, и в настоящее время возникает много споров и сомнений. Большинство окклюдерных устройств до сих пор используются с превышением своих технических характеристик, а первоначальная конструкция не может в полной мере отвечать требованиям физиологической среды органов дыхания. Поэтому для подтверждения их безопасности и эффективности по-прежнему необходимы крупномасштабные исследования и долгосрочное наблюдение за результатами клинических исследований.
	<i>Окклюдер ДМПП</i>	Косарев П. (2017), А. Баженов (2017), Wang (2017)Zhou (2021), Ottevaere (2013), Papiashvilli (2013)		
	<i>Окклюдер ДМЖП</i>	Bai (2021), Lui (2022)		
	<i>Окклюдер ОАП</i>	Wang (2017), Fruchter (2012)		
	<i>Линейные спирали</i>	Guo (2019), Baden (2022)	небольшой свищ диаметром <5 мм, с определенной формой	риск смещения выпадения, усиление кашля, инфицирования, кровотечения или смещения спирали
	<i>Эндобронхиальный и внутриbronхиальный клапан</i>	В. Паршин, Е. Дробязгин (2020), Song (2022), Giddings (2014), Song (2022)	сокращает время госпитализации и снижает риск госпитальных осложнений, эффективен при свищах диаметром 4–8 мм	потенциальные осложнения установки включают ателектаз, повреждение дыхательных путей или тканей, дистальную инфекцию, локализованный отек или отек дыхательных путей в месте имплантации, постоянный кашель, кровохарканье, смещение клапана, пневмоторакс, одышку, гиперплазию тканей или смерть от гранулемы в месте имплантации.

Можно сделать вывод, что применение данных методик по поводу лечения БС является безопасным, эффективным и малоинвазивным. Тем не менее, существует нехватка крупномасштабных, многоцентровых, рандомизированных контролируемых исследований, что не позволяет проводить прямое сравнение двух или более эндоскопических методов лечения.

Однако консервативное и эндоскопическое лечение в некоторых случаях не позволяет добиться положительного результата, и хирурги вынуждены решать проблему оперативными методами. Открытая хирургия считается одним из предпочтительных методов лечения крупных БС. При хирургическом лечении, как правило, устраняется дефект культи бронха посредством реампутации, ушивания, окклюзии, либо остаточная полость замещается хорошо кровоснабжаемыми тканями, такими как мышцы или большой сальник, также прибегают к уменьшению объема плевральной полости (торакопластика) [70].

Эффективность данных методов лечения, по мнению различных авторов, составляет 80–90% [22, 80, 152]. Спорными остаются вопросы выбора хирургического доступа к культе бронха, хирургические приемы обработки свища на короткой культе и повторные вмешательства при рецидиве свища. Важнейшим моментом при легочной резекции является сохранение короткой и прочной культи бронха. В некоторых рекомендациях говорится, что в случае развития БС в длинной культе бронха, ее следует сократить максимум до 3 мм [209]. Укорочение и герметизацию культи следует производить степлером или, если места недостаточно, зашивать рассасывающейся мононитью. Для улучшения заживления также можно использовать васкуляризированное тканевое покрытие.

Различные хирургические и эндоскопические методики лечения БС, запатентованные в Российской Федерации представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Запатентованные методики лечения БС в РФ

Методика	Патент	Сроки исследования	Автор, учреждение
Способ хирургического лечения бронхиального свища после операции по поводу туберкулёза лёгких	RU2627292C1	2016-06-24 - 2017-08-04	ФГБУ "УНИИФ" Минздрава России
Способ лечения бронхоплевральных свищей при лёгочно-плевральных формах острой гнойной деструктивной пневмонии у детей	RU2699210C1	2018-05-24- 2019-09-03	Игорь Иванович Бабич
Способ оперативного лечения эмпиемы плевры с бронхоплевральным свищом	RU2802125C1 RU2802125C1	2022-10-27- 2023-08-22	Андрей Владимирович Никулин
Способ селективной пломбировки бронхоплевральных свищей	RU2269940C2	2003-10-06- 2006-02-20	Евгений Владимирович Левченко
Способ лечения хронических постоперационных свищей сегментарных бронхов и сопутствующих эмпием остаточных плевральных полостей после операции по поводу резекции легкого при туберкулезе легких	RU2811544C2	2020-10-27- 2024-01-15	Александр Викторович Баженов
Способ бронхиопластики после бескультевой обработки правого главного бронха	RU2692989C1	2018-10-22- 2019-06-28	Евгений Владимирович Левченко

Зарубежные авторы также предлагают множественные методики и алгоритмы лечения пациентов, сравнения их преимущества и недостатки в лечении БС. В одной из статей авторы ретроспективно сравнили результаты консервативного и интервенционного лечения (хирургические и эндоскопические методики) 103 пациентов с БС. В статье были описаны методы, используемые при лечении БС у пациентов после широкого спектра торакальных вмешательств, включая лобэктомия с видеоторакоскопической хирургией (ВАТС), лобэктомия с циркулярной резекцией, резекцию пищевода или пневмонэктомию [249]. В большинстве случаев им удалось добиться лечения БС с помощью бронхоскопической имплантации стента или сочетания стентирования с другими

методами. Пациенты в группе интервенционного лечения демонстрировали лучшую выживаемость, чем в консервативной группе.

Однако не было обнаружено значительной разницы в 5-летней выживаемости между двумя группами. Хирургическое или бронхоскопическое лечение БС лучше сказалось в 28- и 90-дневных результатах. Авторы пришли к выводу, что хирургические и бронхоскопические вмешательства более эффективны для лечения БС, поскольку они гарантируют лучшие краткосрочные и долгосрочные результаты по сравнению с консервативной терапией [249]. Согласно авторам другого исследования, индивидуальные стратегии лечения должны быть сформулированы с учетом расположения свища и любых существующих осложнений. Так, для пациентов с БС диаметром менее 5 мм, особенно ≤ 3 мм, герметизирующие агенты, затвердевающие агенты или химические вещества являются более предпочтительными методами лечения. Для лечения пациентов с БС диаметром более 5 мм был эффективен эндобронхиальный назальный бронхолаваж (ЭНБЛ). Стенты дыхательных путей, биоматериалы и окклюзионные устройства являлись эффективными вариантами для БС диаметром около 8 мм. Для БС диаметром 10 см такие методы лечения, как применение окклюдера и аутологичного жира, показали многообещающие результаты [257].

Другие ученые полагают, что поскольку большинство свищей возникают в ранние сроки послеоперационного периода, то сначала они не являются инфицированными, и поэтому большинство пациентов могут быть подвергнуты хирургическому лечению достаточно эффективно. По их мнению, эндоскопическое лечение подходит для тех, кому хирургическое вмешательство противопоказано, включая пациентов с признаками инфекции; пациенты, у которых хирургическое вмешательство является рискованным; пациентам со злокачественными, инфекционными или воспалительными свищами; и пациентам, которым необходим переход к хирургическому вмешательству. Эндоскопическое лечение также возможно при наличии небольших свищей (< 8 мм), возникающих на поздних стадиях послеоперационного периода (> 14 дней). В редких случаях возможно

консервативное лечение. В случае неэффективности данных методик показано хирургическое вмешательство. При использовании данного алгоритма необходимо учитывать различные факторы такие, как предшествующие методы лечения, размер свища, клиническое состояние пациента и опытность хирурга [78].

Таким образом, в настоящее время отсутствует единый алгоритм лечения БС. Благодаря активному развитию современных эндоскопических методик многие хирурги придерживаются именно этой тактики. Следует отметить, что на выбор метода лечения влияют такие факторы, как размер и расположение свища, клинические характеристики пациента, возможности стационара и опыт хирурга. Бронхоскопическое вмешательство является предпочтительным первоначальным выбором лечения для небольших БС диаметром менее 5 мм. К преимуществам эндоскопического закрытия относятся низкая стоимость, снижение частоты осложнений и возможность помочь пациентам в критическом состоянии. Например, для пациентов со свищами диаметром менее 5 мм, и особенно ≤ 3 мм, герметики, склерозирующие агенты и химические вещества могут дать благоприятные терапевтические результаты. Для свищей диаметром более 5 мм может оказаться эффективен ЭНБЛ [169]. Стенты дыхательных путей, биоматериалы и окклюзионные устройства являются приемлемыми вариантами для лечения БС диаметром 8 мм или менее. Для БС диаметром около 10 см такие методы лечения, как применение окклюдера ДМПП и аутологичного жира, показали многообещающие результаты. Однако необходимы дополнительные исследования с более крупными выборками для оценки осложнений, уточнения показаний и противопоказаний, а также оценки краткосрочной и долгосрочной эффективности. В перспективах возможно использование новых методов и оборудования для эндоскопического лечения БС, включая изготовленные на заказ стенты и окклюдеры, созданные с помощью технологии 3D-печати, биологические и химические материалы, а также взаимодополняющие преимущества различных методов лечения [251].

В случае выявления БС терапия первой линии направлена на устранение неотложных, опасных для жизни состояний. Рутинное хирургическое лечение обычно требует дренирования плевры, лечения сепсиса и закрытия дефектов дыхательных путей, часто тканью [11, 22]. К оперативным способам лечения БС относятся прямое закрытие культи межреберными мышцами и/или сальниковым лоскутом, трансстернальное закрытие бронхов и торакопластику с экстраторакальной транспозицией мышц грудной стенки или без нее. Помимо этого, используются эндоскопические техники локального введения в область дефекта фибринового клея, заглушек, окклюдеров и др. [130, 223, 237].

Таким образом, отсутствие «золотого стандарта» лечения бронхиальных свищей, а также постоянные исследования, направленные на поиск эффективных способов устранения данной патологии, подтверждают тот факт, что лечение пациентов с БС остается трудной и не до конца решенной проблемой торакальной хирургии.

1.8. Лечение послеоперационной эмпиемы плевры

Лечение больных с послеоперационной эмпиемой плевры после пневмонэктомии как с наличием БС, так и без него остается актуальным, дискуссионным и достаточно сложным процессом, что подтверждают публикации и опыт последних лет [45, 49, 51]. Наиболее часто пусковым механизмом развития эмпиемы плевры после пневмонэктомии является несостоятельность культи главного бронха, приводящая к инфицированию плевры и развитию вторичной эмпиемы. Нагноение раны с распространением воспаления во внутригрудное пространство также относят к подобному варианту эмпиемы. Если гнойно-воспалительный процесс в плевральной полости развивается без несостоятельности бронха и нагноения послеоперационной раны с формированием

торакальной фистулы, то такую эмпиему принято считать первичной. Механизм развития осложнения после операции остаётся неясным и, вероятнее всего, многофакторным [194, 204]. В условиях воспаления, локализующегося в плевральной полости, антибиотикотерапия оказывается малоэффективной [9]. На протяжении всей истории торакальной хирургии было предложено большое количество вариантов купирования данного осложнения. Однако, общепринятой тактики все еще нет. Она определяется в зависимости от разнообразных факторов, от нозологической формы заболевания и от навыков хирурга.

Неадекватное лечение этих осложнений приводит к формированию хронической эмпиемы плевры, формированию БС, а в ряде случаев и к распространению воспалительного процесса на грудную стенку проявляющегося остеомиелитом ребер и гнойным перихондритом хрящевых отрезков ребер и реберных дуг, а также формированием зияющих торакоством, сепсису, развитию фатальных аррозивных кровотечений из крупных сосудов корня легкого, средостения и сердца.

Летальность при развитии послеоперационной эмпиемы плевры и нагноения послеоперационной раны остается высокой и варьирует, по данным разных авторов, от 4 до 33% [27, 104, 194]. Факторами риска развития осложнений являются злокачественное новообразование либо гнойно-некротический процесс; сопутствующие сахарный диабет, мультифокальный атеросклероз, хронический обструктивный бронхит (в том числе и бронхит курильщика), ожирение. Немаловажную отрицательную роль играет полихимиотерапия либо лучевая терапия в анамнезе, а также перенесённая в прошлом операция посредством торакотомного доступа [1, 31, 47].

Пострезекционная эмпиема плевры чаще всего связана с возникновением БС. Кроме этого, она может развиваться в результате нагноения в гемотораксе при неэффективной или несвоевременной эвакуации содержимого из грудной клетки, а также при нагноении послеоперационной раны. Результаты лечения БС в условиях эмпиемы значительно хуже. В этой связи, проблема лечения острого

воспаления плевры приобретает принципиальное значение и при лечении бронхоплеврального свища.

Тактика и варианты лечения пострезекционной эмпиемы плевры, а также их результаты в значительной степени зависят от наличия БС. Однако, с другой стороны, в условиях воспаления в плевральной полости закрытие свища имеет высокую частоту рецидива. Требуется «разорвать» образовавшийся порочный круг – либо ликвидировать свищ или санировать полость эмпиемы. Следует учитывать и стадию эмпиемы. При 1-2 стадиях вероятность рецидива заболевания выше. Так, рабочая группа «Британского общества торакальных хирургов» рекомендует при 1 стадии проводить дренирование и консервативную терапию. При 2-3 стадиях, кроме санационной терапии, возможно и оперативное лечение, что следует решать индивидуально и основываться на результатах морфологического исследования. Антибиотикотерапия должна зависеть от результатов посевов [74, 93, 180, 249]. В протокол санации полости эмпиемы предлагается включать и введение фибринолитических препаратов для разделения фиброзных перегородок и т.п. [154, 177]. Однако проведенный в свое время метаанализ, основанный на многоцентровом исследовании, (Multicenter Intra-pleural Sesis Trial, MIST1) не показал достоверную эффективность данной терапии [104, 239].

Внедрение малоинвазивных способов не обошло и лечение эмпиемы плевры. Тораковидеоскопическое очищение внутренней поверхности плевральной полости является эффективным способом лечения эмпиемы. Это подтверждено многими исследованиями, в которых публикуются сходные результаты этого варианта по сравнению с открытой хирургией [136, 232, 233]. Другие авторы при изучении эффективности различных вариантов лечения пострезекционной эмпиемы плевры у 391 больного пришли к выводу, что торакоскопическая санация способствует раннему восстановлению и снижению количества койко-дней [193].

Торакостомия – эффективный, но травматичный вариант лечения эмпиемы. Однако, она практически незаменима при бронхиальном свище у тяжелого пациента с выраженными симптомами интоксикации и при угрозе сепсиса [6, 52,

155]. При торакастомии выполняют резекцию ребер и формируют «окно» в грудной клетке, через которое проводят открытое лечение эмпиемы путем многочисленных перевязок с применением марлевых салфеток, обработкой ее химическими агентами [6, 14]. Торакастомия применяется с различной частотой в зависимости от медицинского центра. Так, А. А. Печетов и соавт. сообщают об ее использовании у 48% пациентов, а J.F. Regnard – у 78% [44, 127]. Торакастомия позволила снизить летальность у тяжелой группы пациентов, которым выполнили пневмонэктомию, и у которых наблюдалась несостоятельность культи бронха. Поэтому ряд авторов рекомендует данную методику в качестве первого этапа лечения патологии [48, 155].

Альтернативным вариантом послеоперационного ведения торакастомы с ее многочисленными ежедневными перевязками, которые достаточно травматичные и болезненные, может быть использование терапии отрицательного давления. В данной ситуации это можно рассматривать как инновационный способ лечения. Вакуум-ассистированную повязку сегодня широко используют для лечения гнойных ран, в том числе грудной стенки [71, 138, 142] Вакуум-терапия обладает рядом преимуществ, которые эффективны, в том числе и при лечении эмпиемы плевры, таких как тщательная эвакуация содержимого, ускорение очищения, стимуляция роста грануляций, отсутствие необходимости частых перевязок, сокращение длительности пребывания в стационаре. В совокупности данные преимущества ускоряют процесс выздоровления [222].

Особенности использования отрицательного давления в лечении эмпиемы плевры после пневмонэктомии недостаточно освещены в доступных литературных источниках. Нет общепринятого алгоритма лечения подобных пациентов [113]. Целесообразной стала разработка подходов к лечению эмпиемы плевры с помощью вакуума, в том числе и для предотвращения возникновения БС.

1.9 Возможности регенеративной медицины в торакальной хирургии

В настоящее время возможности регенеративной медицины широко используются в пластической, челюстно-лицевой хирургии, колопроктологии, травматологии и ортопедии, нейрохирургии, лечение трофических язв и длительно незаживающих ран, ларингологии, а также в торакальной хирургии.

Регенеративная медицина направлена на восстановление тканей, органов или частей тела, утраченных в результате травмы, поврежденных болезнью или старением [89].

Одной из целей регенеративной медицины является поиск возобновляемого и расширяемого источника клеток, а также наличие достаточного количества клеток, которые поддерживают соответствующий фенотип и выполняют требуемые биологические функции.

Клетки должны производить компоненты внеклеточного матрикса, секретировать цитокины и другие сигнальные молекулы и взаимодействовать с соседними клетками и тканями. Это обуславливает ряд проблем, первой из которых является выбор типа клеток и источника. Клетки, в зависимости от характеристик донора могут быть аутологичными, аллогенными, ксеногенными или сингенными. В идеале, клетки должны быть неиммуногенными, высокопролиферативными, биосовместимыми, дифференцироваться в специализированные тканеспецифичные клетки, а способ получения клеточного продукта должен быть надежным и воспроизводимым.

В настоящее время для целей регенерации изучают различные типы клеточных препаратов, как основанные на недифференцированных мультипотентных клетках, так и на тканеспецифичных и прогениторных клеток, некоторые исследователи фокусируются на индуцированных плюрипотентных клетках. Рассматриваются также клеточные продукты на основе фракций, выделенных из разных источников, как, например стромально-васкулярная

фракция из жировой ткани, плазма, обогащенная тромбоцитами, моноклеарная фракция костного мозга. Относительно возможности применения клеточных технологий в торакальной хирургии в первую очередь взгляды исследователей обращены к культивируемым клеточным препаратам, прежде всего, к мезенхимальным стволовым клеткам (МСК), дермальным фибробластам, так и маломанипулированным, таким как, стромально-вазкулярная фракция из жировой ткани и плазма, обогащенная тромбоцитами.

1.9.1 Типы клеточной терапии и их применение в современной медицине

Мезенхимальные стволовые клетки

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) представляют собой мультипотентные клетки. Их можно получить из множества органов и тканей взрослого организма, таких как костный мозг, жировая ткань, периферическая кровь, пуповина и другое. Предполагается, что в естественных условиях (*in vivo*) эти клетки локализуются в периваскулярных нишах. Важной характеристикой МСК является их способность дифференцироваться *in vitro* не только в различные мезенхимальные линии (костную, хрящевую и жировую ткани), но и трансдифференцироваться в клетки других зародышевых листков, например, в кератиноциты и нейроноподобные клетки.

Хотя единое строгое определение МСК отсутствует, и экспрессия их поверхностных маркеров может различаться в зависимости от источника ткани, для человеческих МСК костного мозга выделяют ряд ключевых критериев, определенных в 2006 году Международным обществом клеточной терапии [67]:

- 1) Способность прикрепляться к пластику при стандартных условиях культивирования.

2) Более 95 % популяции МСК должны экспрессировать специфические поверхностные антигены (CD73, CD90 и CD105), но не CD14 или CD11, CD19 или CD79 α , CD34, CD45 или HLA-DR (менее 2 % положительных результатов);

3) Способность к направленной дифференцировке *in vitro* в остеобласты, адипоциты и хондробласты.

В костном мозге МСК встречаются редко, составляя лишь 0,001–0,08% от общего числа клеток. Экспериментально доказано, что они мобилизуются в периферическую кровь в ответ на повреждение. Эти мобилизованные МСК мигрируют к очагам повреждения, где основной их функцией является поддержка регенерации и восстановления тканей. Главные механизмы их действия включают паракринную функцию за счет секреции различных факторов (таких как HGF, EGF, VEGF), регуляцию ремоделирования внеклеточного матрикса, модуляцию иммунного ответа (например, антагонизм IL-1, секреция IL-10), стимуляцию местной пролиферации и дифференцировки клеток-предшественников [162, 206].

Терапевтический потенциал МСК продемонстрирован в экспериментальных моделях повреждений практически всех основных органов (мозг, печень, почки, легкие). Они также способны индуцировать иммунную толерантность в моделях трансплантации, активируя регуляторные Т-клетки через секрецию цитокинов.

Учитывая широкий спектр положительных эффектов, выявленных в доклинических исследованиях, МСК активно изучаются в настоящее время в многочисленных клинических испытаниях.

Дермальные фибробласты

Это клетки мезенхимной природы, которые легко выделить из ткани и поддерживать в культуре в больших количествах. Они являются клеточным компонентом соединительной ткани и играют важную роль в синтезе внеклеточного матрикса и поддержании архитектоники ткани. Они не только обладают физиологической функцией, но и являются важным клеточным компонентом, которые используются при воспалении для заживления повреждений.

Фибробласты могут функционировать в качестве антигенпрезентирующих клеток в разных тканях и даже подавлять воспалительные реакции [207].

Отложение ВКМ фибробластами и ответ этих клеток на эндогенные стимулы, включая факторы роста, имеют решающее значение для заживления ран. В зависимости от происхождения фибробластов выявлены различия в синтетической функции компонентов ВКМ, например, коллагена. Фибробласты плода синтезируют больше общего коллагена и коллагена III и IV типа, мигрируют с большей скоростью, чем фибробласты взрослого [250]. В месте раны фибробласты плода способны одновременно пролиферировать и синтезировать коллаген. В ранах у взрослого человека синтез коллагена ограничен до тех пор, пока фибробласты пролиферировать. Таким образом, замедленная скорость миграции и отложение коллагена при заживлении ран у взрослых, вероятно, способствуют образованию рубцов. Для эффективного заживления ран требуется средство, которое *in vivo* будет отражать сложную среду типов клеток и факторов роста. Один из подходов заключается в доставке жизнеспособных клеток, включая фибробласты, в место раны. Эти клетки не сохраняются бесконечно [100], но вместо этого служат источником факторов роста и цитокинов для поддержки функции собственных клеток пациента [94].

Могут быть использованы как аутологичные, так и аллогенные фибробласты. Преимущество использования аутологичных клеток заключается в том, что ускоряется процесс заживления раны за счет сокращения времени, необходимого клеткам-хозяевам для проникновения в раневую ткань и раннего синтеза новой кожи [160]. Основываясь на предыдущих исследованиях, лечение только клетками ускоряет скорость заживления ран, но не оказывает положительного влияния на сокращение раны [208]. Однако, у истощенных и возрастных пациентов с тяжелой соматической патологией не всегда возможно получить достаточное количество культивированных клеток. Помимо этого, наличие онкопатологии несет в себе риск трансформации клеток [252]. Клеточная терапия с использованием аллогенных клеток также имеет терапевтическое значение в заживлении ран [90]. Аллогенные

клетки не фиксируются и не образуют постоянное покрытие раны, вскоре уступая место клеткам хозяев. Тем не менее, они способствуют миграции и пролиферации клеток хозяев, расположенных по краям раны, благодаря выделению не только факторов роста, но и компонентов внеклеточного матрикса и базальной мембраны. Таким образом, аллогенные клетки играют важную роль в процессе заживления раны, ускоряя эпителизацию от краев и способствуя образованию грануляционной ткани [252].

Стромально-васкулярная фракция

У исследователей вызывает большой интерес перспектива использования свежевыделенных стромальных клеток жировой ткани (ЖТ), так называемой стромально-васкулярной фракции (СВФ).

Процесс получения стволовых клеток из жировой ткани является достаточно простым и включает в себя ферментативную или механическую диссоциацию жировой ткани до образования клеточной суспензии, после чего адипоциты удаляются с помощью центрифугирования. Данная процедура может выполняться как вручную, так и с применением автоматизированных систем [68]. Состав СВФ ЖТ включает мезенхимальные стволовые клетки (МСК), составляющие от 1,5 до 25% от общего количества клеток с ядрами, а также гладкомышечные и эндотелиальные клетки микрососудов, макрофаги и лимфоциты. В этом материале также могут присутствовать волокнистые элементы стромы. В среднем, из одного грамма жировой ткани можно извлечь от 500 тысяч до 2 миллионов клеток с ядром. В ходе аутотрансплантации гетерогенный клеточно-тканевый состав СВФ ЖТ не только позволяет МСК дифференцироваться и заменять утраченные клетки, но и обеспечивает ряд терапевтических эффектов. К ним относятся проангиогенный эффект эндотелиальных клеток, иммуномодулирующее действие клеток лимфомакрофагального ряда, а также стабилизирующий и способствующий клеточным взаимодействиям матриксный эффект аутоколлагена [13, 42].

Жировая ткань обеспечивает богатый источник мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Жировые МСК могут быть легко выделены из жировой ткани путем ферментативной или механической обработки. Полученная клеточная суспензия центрифугируется. Затем отделяются адипоциты [68]. СВФ состоит преимущественно из МСК (до 25 % от общего числа ядродержащих клеток), гладкомышечных и эндотелиальных клеток микрососудов, макрофагов и лимфоцитов (иммунные клетки) и волокнистых элементов стромы. В препарате, полученном из одного грамма жировой ткани, может содержаться от 500 тыс. до 2 млн ядродержащих клеток. Аутотрансплантация гетерогенной СВФ ЖТ обладает не только способностью стимулировать дифференцировку МСК и замещать утраченные клетки, но и оказывает целый комплекс терапевтических воздействий. Например, проангиогенное действие эндотелиальных клеток, иммуномодулирующий эффект на лимфоциты и макрофаги, а также стабилизирующее и поддерживающее клеточное взаимодействие за счет влияния аутоколлагена, содержащегося в СВФ ЖТ [13, 42].

СВФ ЖТ также можно применять при хронических ранах. Было проведено исследование *in vitro* для определения влияния клеточной терапии с использованием некультивируемых клеток СВФ ЖТ на пролиферацию клеток и синтез коллагена раневыми фибробластами, которые являются основными факторами, способствующими заживлению ран. Результаты показали, что пролиферация клеток и синтез коллагена в группе лечения клетками СВФ ЖТ были на 28% и 44% выше, чем в контрольной группе. Кроме того, наблюдался синергический эффект аутотрансплантата клеток СВФ ЖТ, возможно, за счет взаимной стимуляции раневых фибробластов и клеток СВФ ЖТ и секретируемых ими факторами роста. Клиническое исследование, в котором приняли участие 54 пациента с язвами диабетической стопы, также продемонстрировало, что терапия ускоряет заживление диабетических язв. После 8 недель лечения полное заживление ран произошло у всех пациентов (100%) в группе, получавшей клетки СВФ ЖТ, и у 16 пациентов (62%) в контрольной группе ($p < 0,05$) [119].

Плазма, обогащенная тромбоцитами (ОбТП)

Тромбоциты – это безъядерные элементы крови, цитоплазма которых богата гранулами, содержащими различные биологически активные вещества. Альфа-гранулы являются самыми многочисленными и содержат фибриноген, иммуноглобулины и факторы роста, которые влияют на восстановление и новообразование мягких и костных тканей. Выделение этих факторов в области повреждения активированными тромбоцитами влияет на клетки, составляющие ткани, соседствующие с поврежденной зоной, что приводит к изменениям в пролиферации, дифференцировке, синтезе белка и хемотаксисе. Альфа-гранулы тромбоцитов содержат PDGF (тромбоцитарный фактор роста), задействованный в пролиферации преостеобластов и фибробластов, а также стимулирующий хемотаксис и формирование внеклеточного матрикса; TGF (трансформирующий фактор роста), влияющий на хемотаксис и образование внеклеточного матрикса; EGF (эпидермальный фактор роста), стимулирующий пролиферацию фибробластов и хемотаксис; IGF (фактор роста инсулина), который влияет на пролиферацию преостеобластов, хемотаксис и внеклеточный матрикс и VEGF, стимулирующий ангиогенез [83]. Согласно различным исследованиям ОбТП благоприятно воздействует на процессы заживления [101, 236].

1.9.2 Доклинические исследования

Успехи регенеративной медицины использовались в доклинических исследованиях на моделях различных животных.

Одними из первых высокую эффективность мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (МСК КМ) в процессе заживления бронхиальной культуры продемонстрировали в исследовании, проводившемся на мелких грызунах (крысах), всего 36 особей, которым выполнялась левосторонняя пневмонэктомия

[215]. Крысам (опытная группа) вводили в культуру бронха предварительно маркированные стволовые клетки, полученные из костного мозга. В ходе анализа макроскопических данных и гистопатологических особенностей на 21-й день было обнаружено восстановление культуры бронха преимущественно у крыс из группы, которым вводились стволовые клетки. Таким образом, авторы пришли к заключению, что стволовые клетки, полученные из костного мозга, вводимые локально на культуру бронха, способны мигрировать, достигать стенки бронха и участвовать в процессе заживления [215].

В другом исследовании оценивали результативность лечения стволовыми клетками при негерметичности пищеводного анастомоза на искусственно созданной модели кролика. Кроликам вводились МСК на фибриновом каркасе. В опытной группе отмечалась большая частота закрытия дефекта, снижение процента инфицирования, а также воспаления. В эксперименте, проводимом на свиньях (10 особей), авторы предложили использовать ОБТП для лечения бронхиальных фистул [226]. Животные были рандомизированы на две группы: опытную и контрольную. В опытной группе животным применяли ОБТП после пневмонэктомии. Плазму получали путем центрифугирования крови животного и сбора лейкоцитарной пленки, содержащей тромбоциты и лейкоциты. Полученный концентрат активировали добавлением CaCl_2 , в результате чего получался желеобразный тромбоцитарный гель. Исследователи пришли к выводу, что повышенная концентрация тромбоцитов запускала процессы заживления, так как процент грануляционной ткани культуры бронха был в разы выше в группе животных с применением ОБТП.

Согласно результатам исследования, проведенного в 2018г. на девяти крупных животных (козы) после правой верхней лобэктомии, регенеративные свойства МСК в терапии белковой недостаточности могут быть связаны с усилением синтеза коллагенового матрикса и ускоренной пролиферации фибробластов. Животные были рандомно разделены на две группы: опытная (с бронхоскопической инъекцией аутологичных МСК на 7-е сутки после операции) и

контрольная (с бронхоскопическим введением фибринового клея). На 28-е сутки животные выводились из эксперимента. Согласно результатам гистологического исследования, данным КТ и МРТ у всех испытуемых опытной группы отмечалось закрытие свища, ассоциируемое с пролиферацией фибробластов в просвете и развитием коллагенового матрикса [180].

Эффективность применения аутологичных пластов фибробластов для укрепления культуры бронха изучалась на модели крысы [69]. Животным выполнялась пневмонэктомия слева, многослойные пласты фибробластов, полученные из аутологичных тканей слизистой оболочки полости рта, трансплантировались в культуру бронха.

Изменения культуры бронха исследовали макроскопически, гистологически и механически. В работе было показано, что пласты фибробластов способствовали образованию толстой соединительной ткани вокруг культуры бронха, что сопровождалось появлением новых кровеносных сосудов.

Осмотр через 7 дней после трансплантации листов фибробластов показал, что бронхиальная стенка стала значительно толще, а площадь кровеносных сосудов тканей бронхиальной стенки в опытной группе была достоверно больше, чем в контрольной, со временем формировался фиброз. Кроме того, давление разрыва культуры бронха было выше в опытной группе, чем в контрольной.

В ряде клинических исследований была продемонстрирована эффективность использования МСК, ОБТП и матрикса, засеянного клетками, а также других клеточных культур [86, 180].

В экспериментальной работе японских исследователей был продемонстрирован способ лечения БС на основе «биоаглушки», которая изготавливалась с использованием технологии 3D-биопринтинга с различными пропорциями фибробластов, эндотелиальных клеток и МСК КМ микрососудов легкого крысы [219].

1.9.3 Клинические примеры применения клеточной терапии

Одними из 1-ых случаев успешного применения СВФ ЖТ методом липоаспирации, описали в 2008 году [57]. Методика применялась для лечения пациента с раком легкого. Через 2 года после операции и нескольких курсов химиолучевой терапии произошел рецидив, в связи с чем была назначена лазерная терапия, на фоне которой у пациента развился трахеомедиастинальный свищ. Принимая во внимание все риски оперативного вмешательства, было решено применить клеточную терапию. Результаты лечения доказали эффективность методики. Осложнения отсутствовали в течение 2 лет наблюдения после лечения. Эти же авторы описали 2 клинических случая успешного лечения БС с применением СВФ ЖТ. Традиционное хирургическое лечение в обоих случаях оказалось неэффективным. Выделенную СВФ ЖТ вводили в область без эпителия и свищевой ход. Трехлетнее наблюдение подтвердило успешное закрытие свища и отсутствие побочных эффектов, связанных с терапией.

В одном из исследований использовали бронхоскопические инъекции МСК жировой ткани (ЖТ) в фибриновом клее для лечения пациента с трахеомедиастенальной фистулой после лазерной абляции рака трахеи. Проведенное лечение позволило избежать осложнений, а также добиться регресса патологического процесса. Послеоперационная бронхоскопия показала закрытие фистулы с реэпителизацией и неоваскуляризацией трахеи [57].

Кроме того, в зарубежной литературе был описан клинический случай использования трансплантата с матриксом, засеянным аутологичными МСК, по поводу рецидива бронхиальной фистулы [86]. МСК были получены из жировой ткани, выращены в культуре и нанесены на биоразлагаемую сетку, которую имплантировали в область БС. По данным бронхоскопии признаков рецидива не наблюдались через 3 месяца, по данным КТ – через 16 месяцев, а по результатам клинического наблюдения – через 1,5 года. Нежелательных побочных явлений, а

также признаков злокачественного перерождения МСК *in situ* не выявлено. Таким образом, в этом наблюдении была показана эффективность клеточной терапии, подтверждена возможность выделения и культивирования аутологичных МСК у пациентов в ослабленном состоянии.

В другом клиническом случае авторы заявили об успешном закрытии БС посредством бронхоскопического введения МСК, полученных из пуповины. КТ, сделанная через 6 мес. после лечения, выявила отсутствие дефекта, рецидива не наблюдалось в течение 2 лет наблюдения [87]. Еще одни авторы описали метод бронхоскопического введения аутологичных МСК КМ для лечения БС у 42-летнего пациента после правосторонней пневмонэктомии по причине злокачественной мезотелиомы [180]. Пациенту была проведена аспирация костного мозга с последующей изоляцией и размножением МСК. Далее однократно через бронхоскоп в культю правого главного бронха ввели 10 млн клеток. Через 60 дней бронхоскопическое исследование показало полное заживление фистулы. В другом исследовании также была продемонстрирована эффективность применения МСК костного мозга (КМ) в заживлении культи бронха [215].

Помимо МСК, для стимуляции регенерации применяют культивированные фибробласты, являющиеся основными клетками соединительной ткани. Состояние основных внеклеточных компонентов соединительной ткани, коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон и межклеточного матрикса, зависит от функциональной активности фибробластов.

Ускорение заживления ран при введении фибробластов также обусловлено выработкой разнообразных иммунологически активных факторов, влияющих на рост всех типов клеток в зоне повреждения. Культивирование дермальных фибробластов не требует особых условий и характеризуется относительно низкой стоимостью. Применение культивированных *in vitro* фибробластов получило широкое распространение и признание как безопасный и эффективный метод лечения [99, 218].

Первый опыт использования клеточных технологий по поводу эндобронхиальной окклюзии свища бронха в торакальной хирургии в России был описан В. Егоровым [30]. В исследовании приняли участие 17 пациентов с бронхиальными фистулами после пневмонэктомии. В целях ускоренного заживления послеоперационных бронхиальных свищей диаметром не более 5 мм пациентам *in situ* вводилась суспензия культивированных аллогенных фибробластов человека. Во всех случаях несостоятельность культи главного бронха и эмпиема плевры развивались на 6–22-е сутки послеоперационного периода. Всех пациентов лечили на 7–10-е сутки после диагностирования свищевого дефекта, диаметр которого в среднем составлял 5 мм. Клеточная терапия с использованием фибробластов проводилась однократно. В 15 случаях была отмечена положительная динамика закрытия свища [30].

Одним из перспективных методов в закрытии свищевых дефектов является применение аутологичной ОБТП, и ее производных. ОБТП действует как тканевый герметик, при этом тромбоциты инициируют заживление ран путем высвобождения факторов роста посредством дегрануляции α -гранул. Высвобождение этих факторов в месте повреждения активированными тромбоцитами оказывает влияние на клетки, входящие в состав тканей, прилегающих к очагу поражения, вызывая изменения в процессах пролиферации, дифференцировки, синтеза белка, хемотаксиса и ангиогенеза. Помимо этого, ОБТП при взаимодействии с макрофагами подавляет высвобождение цитокинов и ограничивает воспаление, улучшая заживление и регенерацию тканей, стимулируя рост новых капилляров и ускоряя эпителизацию. Описаны результаты применения ОБТП в пульмонологии при лечении тяжелого кровохарканья, респираторных свищей, спонтанного пневмоторакса и разрыва трахеи. Клинические примеры использования ОБТП для лечения свищей верхних дыхательных путей представлены в одной из современных работ [M. Wu et al., 2021]. В описываемых 3-х случаях свищи размером до 10 мм выявлялись поздно. Процедуру повторяли от 2 до 6 раз, в зависимости от динамики процесса. В одном случае дополнительно был установлен

стент. Во всех случаях произошло закрытие свища. Осложнений в процессе лечения и симптомов, связанных со свищами, выявлено не было. Таким образом, перспективы применения ОБТП продемонстрированы как в доклинических исследованиях, так и на клинических примерах. Также был представлен положительный результат применения ОБТП в лечении БС, возникшего у пациента после трансплантации легких. Послеоперационный период осложнился правосторонним очаговым плевритом и эмпиемой плевры. Через 1 месяц после операции был диагностирован свищ правого главного бронха. Пациенту двукратно в течение недели была выполнена процедура эндоскопического введения аутологичной ОБТП. Через 2 недели от начала лечения отсутствовали признаки свища, самочувствие пациента было удовлетворительным [235].

На момент написания литературного обзора в международной базе данных клинических исследований ClinicalTrials.gov (clinicaltrials.gov) было зарегистрировано 5 клинических исследований по изучению терапевтического потенциала клеточных технологий у пациентов со свищами верхних дыхательных путей (Таблица 4). В исследовании No NCT02959333 рассматривалась результативность применения амниотических эпителиальных клеток человека для лечения БС на примере 10 пациентов (Китай). В следующем исследовании No NCT03792360 изучалась эффективность СВФ ЖТ в лечении пищеводных и верхних дыхательных свищей. Исследование проводится в США, в клинике Mayo Clinic, с участием 10 пациентов. Аналогичное исследование No NCT05270850 проходит и в Китае, где изучается эффективность СВФ ЖТ для терапии рефрактерных доброкачественных стенозов и свищей дыхательных путей. Не менее интересное исследование проводится в Великобритании No NCT04435249, целью которого является оценка эффективности тканеинженерного продукта в устранении БС. Ученые применяют децеллюляризированный каркас трахеи, засеянный аутологичными МСК КМ. Таким образом, для лечения верхних дыхательных путей применяются различные клеточные технологии, которые с успехом используются в экспериментальных исследованиях и в единичных клинических случаях

Таблица 4 – Текущие клинические исследования по изучению терапевтического потенциала клеточных технологий в лечении свищей верхних дыхательных путей

Патология	Метод клеточной терапии	ClinicalTrials.gov Identifier ¹	Сроки проведения	N	Страна/спонсор
Трахеопищеводные свищи, бронхопищеводные свищи, свищи трахеи	СВФ ЖТ	NCT03792360	02.2021-2028 (прекращено из-за малого количество участников)	Нет данных	Клиника Мэйо (США)
Бронхиальные свищи	Амниотические эпителиальные клетки человека	NCT02959333	10.2016-12.2017	10	Больница при Фуцзяньском Медицинском университете (Китай)
Бронхоплевральные свищи	МСК пуповины	NCT02961725	04.2016- 04.2019	10	Китай
Бронхоплевральные свищи	Тканеинженерный продукт для дыхательных путей, состоящий из аутологичных МСК КМ, засеянных на децеллюляризованный аллогенный участок каркаса дыхательных путей	NCT04435249	10.2023- 03.2025-11.2027	5	Videregen Limited (Великобритания)

¹Источник: <https://clinicaltrials.gov/>, данные на март 2024 года

Резюме 1

Бронхоплевральные осложнения после резекционных операций на легких остаются актуальной проблемой, несмотря на значительное снижение их частоты в последние десятилетия. Чаще формирование бронхиального свища и последующей эмпиемы плевры происходит после правосторонней пневмонэктомии. Подобное неблагоприятное течение послеоперационного периода является основным пусковым механизмом дальнейшего развития фатальных осложнений. БС и эмпиема обуславливают основную причину летального исхода. Профилактические хирургические и консервативные мероприятия позволили снизить частоту БС и эмпиемы, однако полностью исключить их развитие не удастся. Манифестация данных осложнений чаще происходит в первые две недели после операции, но возможно и более позднее (через несколько месяцев) формирование БС с сопутствующей эмпиемой. Патогенез несостоятельности трахеобронхиального анастомоза носит многофакторный характер. Считается, что основную роль в нем могут иметь как хирургические, так и нехирургические аспекты. Профилактика БС и эмпиемы плевры основана на понимании вышеописанных особенностей патогенеза, а также хирургических и нехирургических аспектов развития данных осложнений.

Диагноз «бронхиальный свищ» ставится с учетом совокупности клинических, рентгенологических, а также бронхоскопических данных, на основании которых определяется сброс воздуха из крупного, долевого или сегментарного бронхов в плевральную полость. У некоторых пациентов с инфицированием плевральной полости может наблюдаться лейкоцитоз или повышенная скорость оседания эритроцитов. Несмотря на то, что признаки свища можно визуализировать посредством рентгенограммы грудной клетки, большинство авторов полагают, что данную патологию лучше оценивать с использованием КТ. Основным методом диагностики БС остается эндоскопический. Фибробронхоскопия позволяет определить прямые признаки свища, уточнить его локализацию и размеры дефекта. Данное исследование также незаменимо для

выявления эффективности различных вариантов купирования осложнения.

Лечение БС и эмпиемы плевры – сложная и актуальная проблема. Предложено большое количество различных вариантов, но ни один из них не стал «золотым стандартом». Общая тенденция в лечении БС и эмпиемы – стремление минимизировать операционную травму с максимально возможным эффектом. Открытые операции сопряжены с технически сложными и рискованными вмешательствами, не обеспечивают гарантированный успех даже при условии их выполнения высококвалифицированными хирургами. Дальнейший прогресс в данной области торакальной хирургии связан с разработками новейших методик эндоскопического лечения, когда в область свища имплантируют различные конструкции, вводят химические вещества и клеточные препараты.

В этой связи регенеративная медицина стала объектом, как экспериментальных, так и клинических исследований. Однако их основным недостатком является ограниченное число пациентов. Ситуация усугубляется отсутствием стандартизации, применением различных клеточных конструкций, принципиально отличных друг от друга. Тем не менее, полученный опыт свидетельствует о перспективности клеточной терапии в лечении и профилактике развития БС. Купирование данного послеоперационного осложнения также зависит от состояния плевральной полости и перибронхиального пространства, что свидетельствует об актуальности купирования острой фазы эмпиемы плевры или ее окончательного купирования в минимальные сроки. Одним из значительных достижений гнойной хирургии стало внедрение вакуум-ассистированной повязки. Эта повязка также используется в грудной хирургии, однако после пневмонэктомии её применение крайне ограничено из-за риска осложнений. Разработка методики наложения вакуум-ассистированной повязки в остаточную плевральную полость после пневмонэктомии представляется особенно актуальной задачей. Инновационные подходы к закрытию бронхоплевральных свищей с использованием клеточных препаратов и вакуум-ассистированной повязки при лечении послеоперационной эмпиемы плевры демонстрируют потенциал как для профилактики, так и для устранения этих осложнений.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационное исследование проводилось на кафедре онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (г. Краснодар) на базе ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1» (г. Краснодар) и на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (г. Сочи). Подготовка клеточного препарата осуществлялась в лаборатории разработки и изучения новых технологий лечения заболеваний ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1». Отбор, наблюдение и лечение пациентов было выполнено в торакальных отделениях ГБУЗ «НИИ-ККБ №1» (г. Краснодар).

Методологически диссертационная работа была разделена на 2 части.

Первая часть диссертационного исследования посвящена улучшению регенеративных способностей трахеальной и бронхиальных стенок и профилактики возникновения дефектов стенок при помощи клеточных технологий. Данная часть включает экспериментальный раздел, представленный исследованиями на крупных лабораторных животных, и клинический раздел в виде ограниченного клинического использования клеточного препарата.

Вторая часть диссертационного исследования посвящена усовершенствованию профилактики и лечения эмпиемы плевры после пневмонэктомии по поводу различных гнойно-деструктивных процессов путем предложенной инновационной методики установки вакуум-ассистированной повязки в остаточную плевральную полость и состоит из клинического раздела.

2.1. Экспериментальное исследование на животных

2.1.1. Дизайн экспериментального исследования

Исследование проводилось на нечеловекообразных приматах вида *Papio anubis* (павианы анубисы) на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии». Содержание лабораторных животных и все манипуляции осуществлялись в соответствии с требованиями ГОСТ 33215-2014 от 2016-07-01 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» и ГОСТ 33218-2014 от 2016-07-01 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за нечеловекообразными приматами». Этапы экспериментального исследования были согласованы и контролировались биоэтической комиссией ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», протокол №92/1 от 18.08.2022г. Павианов брали в эксперимент после 2-х недельного карантина. Исследование проводилось на 22 половозрелых особях мужского пола, возрастом от 7 до 14 лет, весом до 25 кг. Весь период эксперимента животные содержались в индивидуальных клетках. Дизайн исследования представлен на рисунке 7.

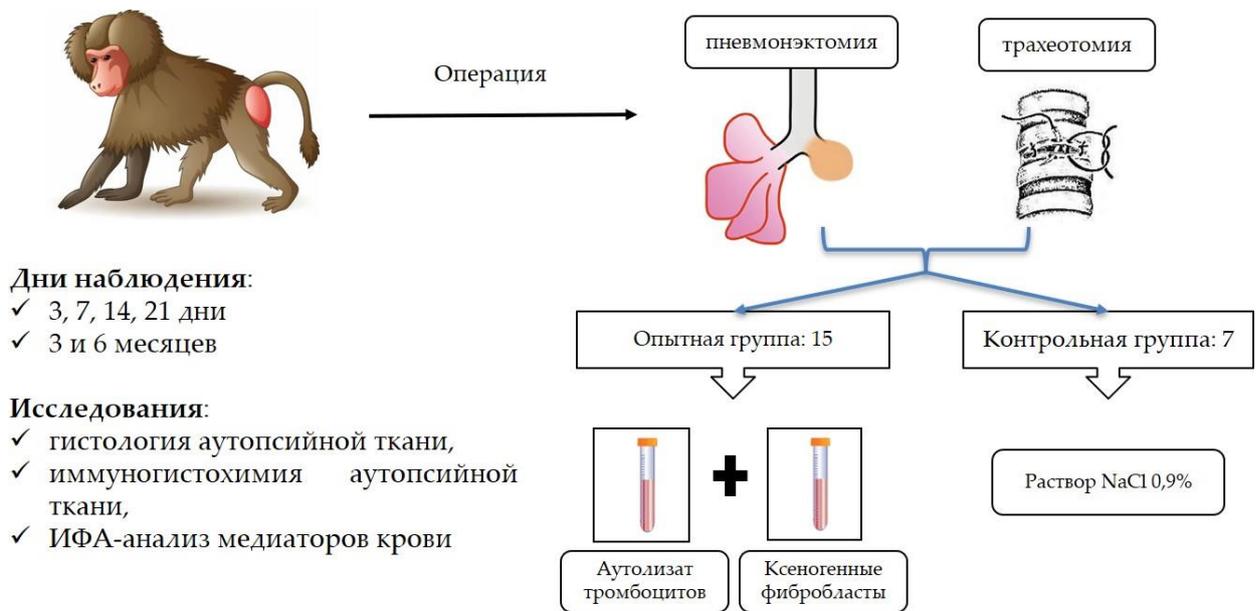


Рисунок 7 – Дизайн исследования

Все приматы были рандомизированы на 2 группы: опытная и контрольная. Опытной группе вводился клеточный препарат, контрольной группе – физиологический раствор NaCl 0,9%. Всем приматам, включённым в опытную группу за 3-е суток, проводили забор периферической крови для приготовления аутологичного лизата тромбоцитов. Также за 3-е суток пассировали замороженные дермальные фибробласты в условиях лаборатории НИИ приматологии. Через 3-е суток были выполнены экспериментальные оперативные вмешательства. После чего за животными в течение установленного срока наблюдали.

2.1.2. Получение компонентов клеточного препарата

Получение компонентов проводили в лаборатории НИИ Приматологии. Клеточный препарат состоял из 2 компонентов: 1) аутологичного лизата тромбоцитов; 2) ксеногенных фибробластов.

Заготовка аутологичного лизата тромбоцитов

За 3 дня до эксперимента у примата забирали периферическую кровь в объеме 5 мл. Выделение ОБТП проводили путем двукратного центрифугирования. После последнего центрифугирования осадок тромбоцитов ресуспендировали в небольшом объеме плазмы для получения готового продукта – плазмы, обогащенной тромбоцитами, затем помещали в морозильную камеру при температуре -80°C с целью разрушения тромбоцитов. Через 24 часа пробирку размораживали при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. Полученный лизат тромбоцитов объемом 1 мл в стерильной пробирке хранили при $t -20^{\circ}\text{C}$ для последующего использования.

Заготовка ксеногенных фибробластов

Для эксперимента использовались ксеногенные дермальные фибробласты человека, P4, полученные из биобанка лаборатории ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1». За 3 дня до эксперимента культуру фибробластов размораживали и пассировали на культуральный флакон. В день эксперимента культура клеток была трипсинизирована и суспендирована в физиологическом растворе NaCl 0,9% для применения в количестве 6 млн клеток в 1 мл. Готовые компоненты упаковывали в стерильный пакет и передавали в операционную.

2.1.3. Модель введения клеточного препарата

Для экспериментального исследования были использованы два вида оперативного вмешательства:

1. Введение клеточного препарата в область трахеального анастомоза
2. Введение клеточного препарата в культю бронха

Каждая операция начиналась анестезиологическим пособием. После введения животного в наркоз выполнялся основной этап операции. Для анестезии был использован общий наркоз. Сначала приматам была проведена седация внутримышечным введением пропофола 2 мг/кг. На операционный стол обезьяны

попадали в состоянии седации с сохраненным спонтанным дыханием. После катетеризации периферической вены на верхней лапе устанавливали мониторинг сатурации, артериального давления, ЭКГ. Преоксигенация проводилась путем инсуффляции кислорода со скоростью 10 л/мин через носовые канюли в течение 2-х минут. Далее после внутривенного введения пропофола 2 мг/кг и фентанила 1 мкг/кг интубировали трахею и правый главный бронх двухпросветной эндобронхиальной трубкой N 35 при операции в плевральной полости слева.

При операции вне плевральной полости интубировали трахею эндотрахеальной трубкой N 7,5. После интубации проводился мониторинг уровня углекислого газа на выдохе. Однолегочную ИВЛ осуществляли в протективном режиме (давление вдоха подбиралось для достижения дыхательного объема 5 мл/кг массы животного, положительное давление конца выдоха 5 см.вод.ст.). При двулегочной ИВЛ давление вдоха подбиралось для достижения дыхательного объема 6–8 мл/кг массы животного, положительное давление конца выдоха составляло 5 см.вод.ст.

В таблице 5 представлены сведения о проведенных оперативных вмешательствах, видах исследования и времени выведения из эксперимента. Для изучения течения раневого процесса и влияния на него клеточного препарата всем животным были проведены исследования периферической крови с помощью иммуноферментного анализа по графику, а также гистологические и иммуногистохимические исследования аутопсийного материала, забранного после выведения животного из эксперимента. Инфузионная терапия проводилась внутривенным введением раствора Рингера со скоростью 5-8 мл/кг/час. На этапе кожного разреза вводили внутривенно фентанил 1 мкг/кг. Седация поддерживалась ингаляцией севофлюрана при минимальной альвеолярной концентрации 0,5 – 0,6 в режиме минимального потока. Во время операции животным не потребовалось введение вазопрессорных препаратов. После окончания операции прекращалась подача севофлюрана, после восстановления кашлевого и ресничного рефлексов производили экстубацию трахеи и удаление периферического катетера. Далее животное перекладывали в клетку-переноску.

2.1.3.1. Модель введения клеточного препарата в область трахеального анастомоза

Животные подавались в операционную в состоянии медикаментозной седации. Модель циркулярной резекции трахеи была воссоздана с применением анестезиологического пособия и активной хирургической тактики (Рисунок 8). После установки периферического венозного катетера приматы вводились в эндотрахеальный наркоз и фиксировались на операционном столе. После трехкратной обработки операционного поля выполнялся поперечный разрез шеи до 5 см. Белая линия шеи рассекалась вдоль.

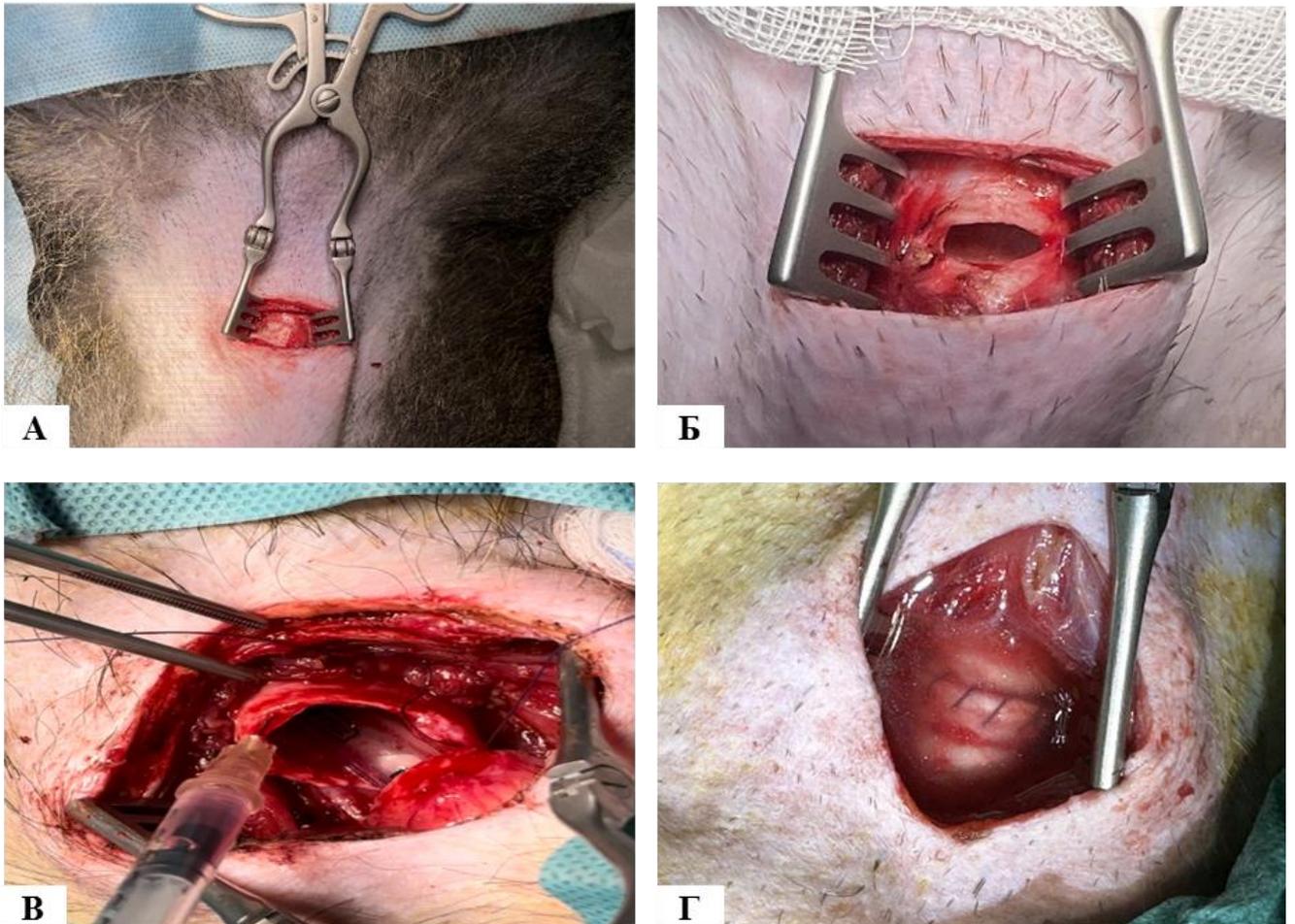
Тупо и остро мобилизовывали гортань, перстневидный хрящ, щитовидный хрящ, верхний и средний отделы трахеи. Коррекция доступа осуществлялась ранорасширителем (Рисунок 8А). На уровне 2 и 5 полуколец трахеи были наложены швы держалки с использованием материала пролен 3-0. Далее была выполнена циркулярная резекция 3 и 4 полуколец трахеи (Рисунок 8Б). Диастаз составлял 1,5 см. После выполнения гемостаза вводили клеточный препарат, отступая от края 2–3 мм циркулярно в подслизистый слой стенки объемом 2 мл (Рисунок 8В).

Таблица 5 – Экспериментальное исследование на животных

Время выведения из эксперимента	Опытная группа				Контрольная группа			
	Количество приматов, n	Объем оперативного вмешательства	Материал исследования	Вид исследования	Количество приматов, n	Объем оперативного вмешательства	Материал исследования	Вид исследования
3-и сутки	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ГИ, ИГХ	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ГИ, ИГХ
7-е сутки	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ИГХ, ГИ	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ГИ, ИГХ
	2	Пневмонэктомия			1	Пневмонэктомия		
14-е сутки	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ГИ, ИГХ	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ГИ, ИГХ
	2	Пневмонэктомия			1	Пневмонэктомия		
21-е сутки	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ГИ, ИГХ	1	Циркулярная резекция трахеи	Кровь/ ткань	ИФА, ГИ, ИГХ
	2	Пневмонэктомия			1	Пневмонэктомия		
3 месяца	1	Циркулярная резекция трахеи	Ткань	ГИ, ИГХ	нет			
	2	Пневмонэктомия						
6 месяцев	2	Циркулярная резекция трахеи	Ткань	ГИ, ИГХ	нет			

Примечание – ИГХ – иммуногистохимическое исследование, ГИ – гистологическое исследование, ИФА – иммуноферментный анализ

Затем была сформирована задняя стенка трахеального анастомоза непрерывным швом материалом викрил 3-0. Передняя стенка трахеального анастомоза формировалась отдельными узловыми швами также материалом викрил 3-0 (Рисунок 8Г). Натяжение трахеального анастомоза уменьшали связыванием швов держалок между собой. После проверки на герметичность посредством водяной пробы был выполнен гемостаз. Рану ушивали послойно узловыми швами материалом этибон 1-0. В завершении швы обрабатывались раствором йодопирона.

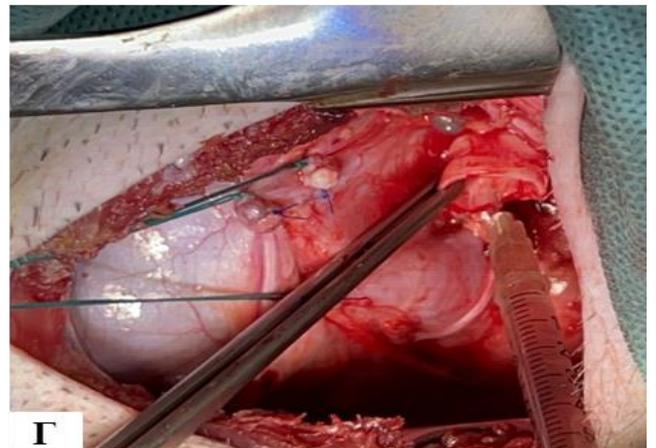
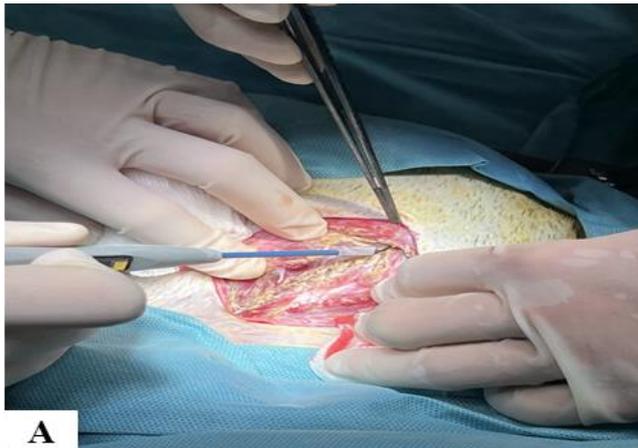


Примечание – А) выделение трахеи; Б) резекция колец; В) введение клеточного препарата; Г) ушивание трахеи

Рисунок 8 – Циркулярная резекция трахеи

2.1.3.2. Модель введения клеточного препарата в культуру бронха

Для создания модели приматам выполняли правую пневмонэктомию (Рисунок 9). После трёхкратной обработки операционного поля раствором антисептика проводили боковую торакотомию справа, в 4-ом межреберье протяженностью 7 см. При ревизии полости было отмечено, что париетальная и висцеральная плевра не имели патологических изменений, физиологической окраски. Легкое сохранялось в полном объеме с воздушной паренхимой. Междолевые борозды были умеренно выражены. При осмотре средостения плевра и медиастинальные лимфатические узлы не имели особенностей. Сначала разрушалась легочная связка, затем удалялись лимфатические узлы легочной связки.



Примечание – А) кожный разрез; Б) торакотомный доступ; В) основной этап операции; Г) введение клеточного препарата в культуру бронха

Рисунок 9 – Пневмонэктомия

На следующем этапе верхняя и нижняя легочные вены были мобилизованы, поочередно перевязаны и прошиты проленом 3-0, после чего пересечены. После мобилизации правая легочная артерия перевязывалась, прошивалась проленом 3-0 и пересекалась. Правый главный бронх (ПГБ) мобилизовывали с последующим острым пересечением. После удаления правого легкого выполнялись инъекции клеточного препарата общим объемом 2 мл в подслизистый слой циркулярно на расстоянии 2–3 мм от края. Культия ПГБ была сформирована одиночными узловыми швами с использованием материала биосин 4-0. После гемостаза проводили водяную пробу для подтверждения отсутствия сброса воздуха. Межреберье ушивалось перикостальными лигатурами без дренирования плевральной полости. Торакотомная рана ушивалась послойно узловыми швами (этибонд 1-0). В завершении операции швы обрабатывались раствором йодопирона.

2.1.4. Оценка состояния и послеоперационное наблюдение в рамках созданных моделей

Весь период эксперимента животные содержались в индивидуальных клетках, проводились клинические и лабораторные наблюдения. Клиническое наблюдение включало в себя мониторинг витальных и физиологических показателей. Для оценки динамики биологически активных веществ методом ИФА регулярно выполняли забор периферической крови на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки (Таблица 6).

По окончании периода наблюдения животных выводили из эксперимента путем эвтаназии в соответствии с внутренними правилами ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» с последующей аутопсией тканеинженерной конструкции и соблюдением требованием Хельсинской конвенции 1975г. и МЗ РФ по гуманной эвтаназии экспериментальных животных. Животных выводили из эксперимента по

установленному графику (Таблица 6.). Аутопсийный материал помещали в 10% формалин для проведения гистологического и иммуногистохимического анализа.

Таблица 6 – График забора периферической крови и выведения из эксперимента

Сутки	0	3		7		14		21		3 мес	6 мес
№	ПК*	ПК	ТК**	ПК	ТК	ПК	ТК	ПК	ТК	ТК	ТК
1	+	+	+								
2	+	+		+	+						
3	+	+		+		+	+				
4	+	+	+								
5	+	+		+	+						
6	+	+		+		+		+	+		
7	+	+		+	+						
8	+	+		+		+	+				
9	+	+		+		+		+	+		
10	+	+		+		+	+				
11	+	+		+		+		+	+		
12	+	+		+	+						
13	+	+		+		+	+				
14	+	+		+		+		+	+		
15	+	+		+	+						
16	+	+		+		+	+				
17	+	+		+		+		+	+		
18										+	
19											+
20										+	
21										+	
22											+
Примечание – * - периферическая кровь. ** - ткань (аутопсийный материал)											

2.2 Клиническое исследование

2.2.1. Формирование групп наблюдения

Исследование представляло собой ограниченное клиническое одноцентровое исследование, носящее характер проспективного описательного исследования. Исследование было выполнено в соответствии с протоколом, правилами ГОСТ Р ИСО 14155-2014, который соответствует GCP и нормативными требованиями. В исследование были включены пациенты торакальных отделений ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1». Отбор пациентов в группы проводился случайным образом. Всего в исследование было включено 110 человек. Пациенты были распределены на 3 группы: 1) пациенты с бронхиальными свищами со стандартной терапией; 2) пациенты с бронхиальными свищами с клеточной терапией; 3) пациенты с интраоперационным введением клеточного препарата при проведении открытой хирургии по поводу основного заболевания. Диссертационное исследование было одобрено локальным этическим комитетом (протокол заседания №113 от 28.03.2019г.) как одноцентровое ограниченное интервенционное исследования. Отбор пациентов в группу для лечения бронхиальных свищей проводился на основании критерий.

Критерии отбора пациентов

1. Возраст 18 – 80 лет (взрослые);
2. Пол: мужчины и женщины;
3. Пациенты с наличием бронхиальных, прошедших стандартную терапии без эффекта;
4. Наличие оформленного информированного согласия и заключение врачебного консилиума в составе специалистов узкого профиля;
5. Отсутствие беременности, периода грудного вскармливания;
6. Не допускались пациенты с диагностированным психическим заболеванием;

Критерии включения:

1. Свищ(и) любой давности;
2. Бронхиальные свищи любого размера;
3. Несостоятельность трахеобронхиальных анастомозов, бронхо-
бронхиальных анастомозов;
4. Несостоятельность культи бронха;
5. Свищ главного бронха;
6. Свищ долевого бронха.

Критерии исключения:

1. Пациенты с пищеводными, трахеопищеводными свищами;
2. Пациенты с активным инфекционным процессом, вызванным
гемотрансмиссивной инфекцией;
3. Злокачественные заболевания крови;
4. Прогрессирование онкологического процесса;
5. Индивидуальная непереносимость компонентов препарата;
6. Терминальные состояния пациентов;
7. Пациенты, подписавшие отказ от проведения манипуляции

2.2.2. Приготовление компонентов клеточного препарата

Клеточный препарат состоял из 2 компонентов: 1) аллогенных фибробластов;
2) аутологичного лизата тромбоцитов.

Приготовление аллогенных дермальных фибробластов

В лаборатории в день введения клеточного препарата готовили взвесь аллогенных фибробластов 4-го пассажа, полученных из биобанка, соответствующую критериям качества готового продукта. Аллогенные фибробласты размораживали, ресуспендировали в физиологическом растворе 0,9%

NaCl в пробирке, упаковывали в стерильную упаковку и вместе со вторым компонентом передавали в клиническое отделение, оформляли протокол выдачи (Приложение А).

Приготовление аутологичного лизата тромбоцитов

В день выявления бронхиального свища и после принятия решения о включении пациента в протокол исследования производили забор венозной крови с гепарином из расчета 2 ед/мл, объемом 50 мл, в условиях процедурного кабинета торакального отделения. Пробирку с кровью передавали в транспортном контейнере в лабораторию разработки и изучения новых технологий лечения заболеваний для приготовления аутологичного лизата тромбоцитов.

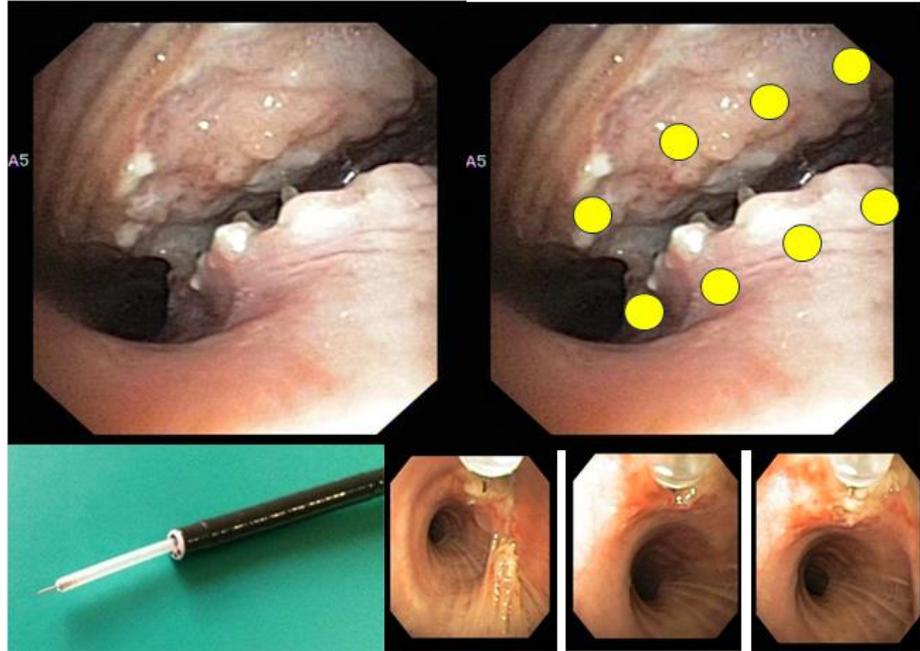
В лаборатории с соблюдением условий стерильности в ламинарном шкафу готовили обогащенную тромбоцитами плазму, с последующим получением лизата тромбоцитов по разработанному способу.

2.2.3. Введение клеточного препарата при бронхиальном свище

Перед введением препаратов пациента подготавливали к проведению бронхоскопии. В условиях кабинета эндоскопии или в условиях палаты интенсивной терапии в зависимости от тяжести состояния пациента проводили местную анестезию, после чего выполняли бронхоскопию. Перед введением препаратов края раны обрабатывали и выполняли некрэктомию.

Компоненты, предварительно смешанные в шприце с помощью инъектора, через канал бронхоскопа вводили в подслизистый слой на глубину не более 1 мм по периметру свища в 4–6 точки на расстоянии 1–2 мм от края свища на одинаковом расстоянии друг от друга (Рисунок 10). Перед процедурой введения забирали образцы ткани на цитологический и гистологический анализы.

Процедуру введения выполняли пятикратно на 1-й, 3-й, 5-й, 7-й, 9-й день лечения. При каждом введении оформляли протокол (Приложение Б).



Примечание – Желтыми точками показаны места инъекции, расположенные по периметру свища. Внешний вид эндоскопической иглы.

Рисунок 10 – Способ введения клеточного препарата через фибробронхоскоп

2.2.4. Интраоперационное введение клеточного препарата

После мобилизации основных структур и выполнения основного этапа оперативного вмешательства – удаление доли или целого легкого, осуществлялась обработка всех выделенных структур. Затем переходили к этапу обработки бронха. Из перибронхиальных тканей выделяли бронх, обрабатывали.

После ушивания культи клеточный препарат, состоящий из аутологичного лизата тромбоцитов 2 мл и аллогенных дермальных фибробластов 2 мл вводили с помощью 1 мм шприца в культю. Завершающим этапом был гемостаз с последующей проверкой герметичности с помощью водяной пробы, а также установка дренажа в плевральную полость. После чего торакотомная рана

послойно ушивалась. При интраоперационном использовании оформляли протокол введения (Приложение В).

2.2.5. Клиническая характеристика пациентов с бронхиальными свищами без применения клеточной терапии

Проведен анализ 34 (33 мужчины и 1 женщина) медицинских карт пациентов торакального отделения ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1» г. Краснодара за период с 2017 по 2023 г., у которых в послеоперационном периоде развился бронхиальный свищ. Средний возраст пациентов составил $61,9 \pm 11$ лет. Характеристика пациентов включала в себя распределение по полу и возрасту, объему оперативного вмешательства, а также по особенностям течения послеоперационного периода и типу бронхиальных свищей.

2.2.6 Клиническая характеристика пациентов с бронхиальными свищами с применением клеточной терапии

С 2017 по 2023 г. в исследование было включено 57 пациентов, средний возраст которых составил $61,2 \pm 8,6$ лет, из них 51 мужчина и 6 женщин. У всех пациентов диагностировали свищ. Для выявления клинических характеристик пациентов применялись клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования. После обнаружения бронхиального свища, в случае соответствия критериям, пациентов включали в клиническое исследование. У всех пациентов было получено информированное добровольное согласие.

Исследование проводилось после заключения локального этического комитета, протокол заседания № 113. Десять пациентов были исключены из

анализа в связи с незавершённой клеточной терапией по причине нахождения на ИВЛ в крайне тяжелом состоянии. В соответствии с протоколом исследования в до- и послеоперационном периодах выполнялись обследования (Таблица 7).

Схема протокола исследования была представлена следующими этапами:

1. Включение в протокол клинического исследования. Подписания информированного согласия.
2. Забор периферической крови.
3. Подготовка клеточного препарата.
4. Бронхоскопия: взятия биопсии и смыва.
5. Окончание лечения. Контрольные бронхоскопии.

Таблица 7 – Лабораторные исследования, проводимые в до- и послеоперационном периодах

Назначение	Дни наблюдения						
	1	3	5	7	9	30	3 мес
Забор периферической крови и приготовление лизата тромбоцитов	✓	✓	✓	✓	✓		
Бронхоскопия	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Биопсия	✓		✓		✓		
Введение ФБ, 2 мл	✓	✓	✓	✓	✓		
Введение ЛТ, 2 мл	✓	✓	✓	✓	✓		
ГИ	✓		✓		✓	✓	✓
Цитокиновый профиль периферической крови и зоны свища	✓	✓	✓	✓	✓		
Примечание – ГИ – гистологическое исследование, ЛТ– лизат тромбоцитов, ФБ – фибробласты							

2.2.7 Клиническая характеристика пациентов с интраоперационным профилактическим введением клеточного препарата

В исследование было включено 19 пациентов, средний возраст которых составил $62,1 \pm 9,4$ лет, из них 15 мужчин и 4 женщины. Всем пациентам проводилась открытая хирургия по поводу основного заболевания. Из особенностей пациенты имели сопутствующую патологию и риск развития в послеоперационном периоде БС. В послеоперационном периоде были выполнены клинические, лабораторные и инструментальные исследования. Контроль за пациентами осуществляли непосредственно до выписки. В последующем каждые 6 месяцев оценивали течение основного заболевания.

2.3. Гистологическое исследование

С целью проведения морфологического анализа изучались образцы экспериментального исследования и материал, полученный во время биопсии при проведении бронхоскопии в основной группе клинического исследования.

Экспериментальное исследование. В области участка анастомоза дыхательных путей кожу разреза иссекали и проводили осмотр линии шва. Аутопсийный материал фиксировали в 10%-ом нейтральном забуференном формалине для дальнейшего гистологического анализа.

Клиническое исследование. Во время выполнения бронхоскопии перед введением клеточного препарата выполняли биопсию. Биопсийный материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине.

После фиксации проводили заливку образцов в парафин по стандартной методике с получением парафиновых блоков. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм

получали при помощи ротационного микротомы Leica RM2235 (Германия) и помещали на высокоадгезивные стекла с полилизинным покрытием.

Для общегистологической оценки срезы депарафинизировали и гидратировали с последующим окрашиванием гематоксилином и эозином.

2.4. Иммуногистохимическое исследование

Для более точного анализа клеточного состава исследуемых образцов выполняли иммуногистохимическое исследование с антителами к CD31 (760-4378 V0004187, Cell Marque), CD68 (790-2931, Ventana Medical System), CD15 (760-2504 H21550, Ventana Medical System). Для определения пролиферативной активности были использованы антитела к Ki67 (Ventana Medical System 790-4286 M00104).

Анализ проводили согласно протоколу изготовителя продукции. Для детекции в качестве вторичных антител применяли систему визуализации UltraView Universal DAB Detection Kit (Ventana Medical System 04015630972173 K28844). Изучение микропрепаратов проводили с помощью микроскопа Olympus IX 51 (Япония).

Далее подсчитывали долю позитивных клеток (в %) в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$: «-» – отсутствие, «+» – слабая (1–10 % клеток), «++» – умеренная (11–50 % клеток), «+++» – выраженная (≥ 51 % клеток) реакция.

2.5. Иммуноферментный анализ

С целью выявления динамики различных медиаторов исследовалась периферическая кровь как в экспериментальной, так и в клинической группах.

Количественное определение содержания цитокинов в образцах сыворотки,

смывов с бронхов проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА). Исследовали образцы сыворотки крови и смывов с зоны дефекта при проведении бронхоскопии.

Образцы сыворотки крови набирали в пробирки (15 мл), центрифугировали при 3000 об/мин, отделяли сыворотку, которую замораживали при температуре – 20°С. До проведения ИФА образцы хранились при данной температуре. Для количественного определения биологических активных веществ использовали «сэндвич»-вариант твердофазного ИФА. В работе применяли наборы моноклональных антител, основные характеристики антител представлены в таблице 8. Оптическую плотность раствора в лунках измеряли на автоматическом спектрофотометре Infinite M Nano Тесан при длине волны 450 нм. После измерения реакции в лунках на основании калибровочной кривой рассчитывалась концентрация цитокина в определяемых образцах.

Таблица 8 – Наименование реагентов для ИФА

Биологические вещества	Производитель
Интерлейкин-2	Вектор-Бест, кат. А-8772, Россия
Интерлейкин-4	Вектор-Бест, кат. А-8766, Россия
Интерлейкин-6	Вектор-Бест, кат. № А-8768, Россия
Интерлейкин-8	Вектор-Бест, кат. № А-8762, Россия
Интерлейкин-10	Вектор-Бест, кат. № А-8774, Россия
VEGF	RayBiotech, Cat. ELH-VEGF, США
PDGF-BB	Invitrogen, кат. №BMS2071, США
FGF basic	FGF basic, R&D Systems, кат. № DFB50, США
MMP2	R&D Systems, кат. № MMP200, США
MMP9	RayBiotech, кат.№ ELH-MMP9, США
ФНО α	Вектор-Бест, кат. № А-8756, Россия

2.6. Характеристика пациентов в группе применения вакуум-ассистированной повязки

Проведен сравнительный анализ двух групп пациентов, которые находились на лечении в отделении торакальной хирургии ГБУЗ «НИИ-ККБ № 1» в период с 2018 – 2024 г. по поводу постпневмоэктомической эмпиемы плевры без свища главного бронха. Пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от применения ВАП: контрольная группа (пациенты после пневмонэктомии с осложнениями, получившие стандартное лечение) и основная группа (пациенты после пневмонэктомии с применением инновационной технологии вакуум-ассистированной повязки) (Таблица 9).

Таблица 9 – Характеристики пациентов основной и контрольной групп

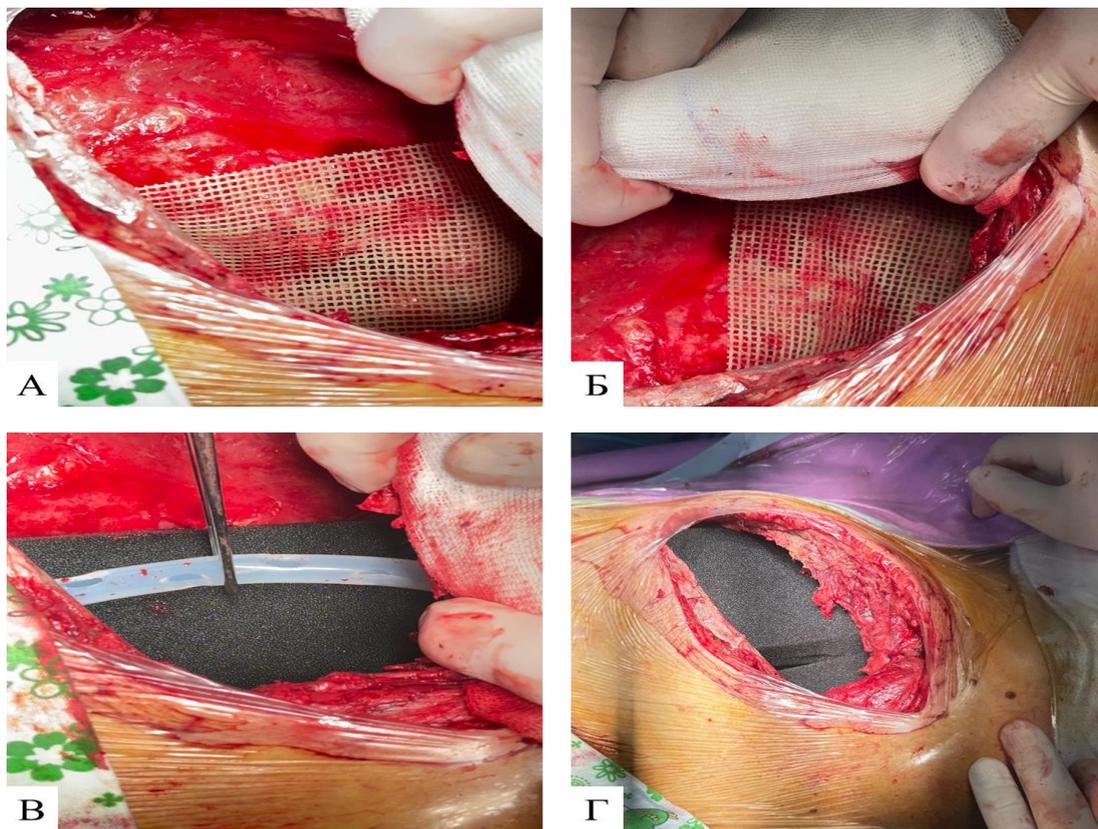
Основная группа пациентов	Контрольная группа пациентов
Пациенты после пневмонэктомии с применением инновационной технологии вакуум-ассистированной повязки – 13 пациентов (8 мужчин и 5 женщин)	Пациенты после пневмонэктомии с осложнениями, получившие стандартное лечение – 32 пациента (21 мужчин и 11 женщин)
Гангрена легкого – 3 Деструкция легкого с эмпиемой – 4 Деструкция легкого и кровотечение – 2 Доудаление легкого – 4	Гангрена легкого – 6 Деструкция легкого с эмпиемой плевры – 10 Деструкция легкого и кровотечение – 3 Доудаление легкого – 13

Основная группа была представлена 13 пациентами (6 мужчин и 5 женщин) с постпневмоэктомической эмпиемой плевры без свища главного бронха. Для лечения данных пациентов применялся метод ВАП. Контрольная группа включала 32 пациентов (21 мужчина и 11 женщины). Тактика их лечения заключалась в

формировании торакастомы, применении маевых повязок и многократных ежедневных перевязок на фоне антибактериальной терапии.

2.7. Технология наложения вакуумной повязки

Технология наложения вакуумной повязки подразумевала обязательное этапное выполнение вторичной хирургической обработки раны и постпневмонэктомической полости с некрэктомией. Перед установкой вакуумной повязки средостение предварительно укрывали адгезивным сетчатым материалом (типа «Бранолинд», типа «АтравманAg», типа «Урго-тюль» и т.д.), затем укладывали один слой стерильной губки и еще 2 слоя стерильной губки в оставшуюся свободную постпневмонэктомическую полость. Между слоями на всем протяжении плевральной полости размещали однопросветный полихлорвиниловый гибкий дренаж, который выводили через контрапертуру в самой нижней точке плевральной полости. В раневую поверхность также укладывали 2 слоя стерильной губки, разместив между ними однопросветный полихлорвиниловый гибкий дренаж. Таким образом, нижний слой губки, установленный в рану, контактировал с верхним слоем губки, уложенным в плевральную полость. На рисунке 11 представлены этапы выполнения операции по наложению вакуум-ассистированной повязки в полость эмпиемы.



Примечание – А) Наложение сетки на средостение; Б) Наложение поролона; В) Установка дренажа поверх поролона; Г) Частичное сведение кожи

Рисунок 11 – Фото этапов операции по наложению вакуум-ассистированной повязки в полость эмпиемы

2.8 Статистическая обработка данных

Выбор статистических данных определялся поставленными задачами, типом данных и характером распределения количественных признаков. Для статистической обработки данных использовали как параметрические, так и непараметрические критерии. Построение графиков и диаграмм, статистическую обработку материалов исследования осуществляли с использованием программного обеспечения GraphPad Prism.

Статистический анализ включал в себя расчет средней (M) и среднеквадратического отклонения (SD), а также медианы с первым и третьим квартилем ($Me [Q1; Q3]$). При оценке данных между 2 группами был использован

метод в зависимости от характера распределения данных в выборках: t-критерий Стьюдента, для сравнения зависимых групп использовали критерий Вилкоксона. Достоверность различий между тремя и более показателями оценивали с помощью метода однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Для нахождения зависимости между признаками внутригрупповых показателей проводился корреляционный анализ Пирсона. Для изучения связи между двумя переменными был использован критерий χ^2 . Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Резюме 2

Диссертационное исследование, проведённое на базе КубГМУ и научно-исследовательских институтов в Краснодаре и Сочи, включало экспериментальные и клинические этапы. Для достижения поставленной цели были выполнены экспериментальные исследования на нечеловекообразных приматах для моделирования операций на трахее и бронхах с введением двухкомпонентного клеточного препарата (фибробласты и лизат тромбоцитов). В клинической части исследования был проведен анализ непосредственных и отдаленных результатов лечения пациентов с бронхиальными свищами, разделённых на группы с и без клеточной терапии, с применением эндоскопического введения препарата во время фибробронхоскопии или оперативных вмешательств. Другая часть клинического исследования включала в себя анализ эффективности применения вакуум-ассистированной повязки для профилактики и лечения постпневмонэктомической эмпиемы плевры без бронхиального свища у пациентов групп высокого риска по развитию несостоятельности культи бронха. Методики включали гистологические, иммуногистохимические исследования и статистический анализ данных.

ГЛАВА 3

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА КЛЕТОЧНОГО ПРЕПАРАТА

3.1. Сравнение клеточных препаратов. Выбор технологии.

В качестве терапевтического подхода для профилактики и лечения БС была разработана технология применения двухкомпонентного клеточного препарата, состоящего из фибробластов и лизата тромбоцитов.

Выбор первого компонента был обусловлен, прежде всего, механизмами действия фибробластов и их ролью в заживлении поврежденной ткани. Второй компонент – лизат тромбоцитов, полученный путем активации обогащенной тромбоцитами плазмы, был использован в связи со значительным содержанием факторов роста, также стимулирующих процессы восстановления.

Получение клеточных препаратов зависит от источника клеток (биологического материала), способа выделения и необходимости в культивировании для увеличения численности клеток. Сравнительный анализ технологических особенностей получения клеточных препаратов представлен в таблице 10. На выбор клеточных препаратов повлияла технология их получения, так как сложность и ограниченность производства некоторых технологий делает их невозпроизводимыми.

Источниками МСК могут служить разные ткани человека, но наибольшее распространение получили костный мозг, пупочный канатик, плацента, пульпа зуба [214], жировая ткань [65]. Для культивирования фибробластов в основном используют кожу человека, но как компонент соединительной ткани их можно выделить из различных органов. Фибробласты, также, как и МСК, требуют длительного процесса культивирования, до нескольких недель и специальных условий, что с одной стороны усложняет процесс внедрения данных технологий в

прикладную медицину [111]. С другой стороны, при культивировании получается однородная функционально-активная культура, которая обладает преимуществом в виде чистоты линии, с высокой жизнеспособностью и секреторной активностью. Немаловажным аспектом является то, что количество клеток с одинаковыми характеристиками многократно увеличивается в процессе культивирования.

Другие клеточные технологии основаны на выделении клеток из тканей, без последующего культивирования, как правило, с помощью физической, механической или химической обработки. При этом клеточная взвесь разнообразна по составу и может содержать различные типы клеток; однако количество клеток ограничено только объемом материала, выделенного из источника. В настоящее время стромально-васкулярной фракции, выделенной из жировой ткани, уделяется огромное внимание как продукту, содержащему стволовые клетки. Несмотря на непродолжительный процесс получения СВФ, ее применение ограничено у пациентов с тяжелым состоянием, так как возникают сложности с забором самого биологического материала [146].

Исходя из особенностей технологического процесса получения клеточных продуктов и возможностей лаборатории было принято решение вести исследования и разработку протокола применения аллогенных дермальных фибробластов и аутологичной активированной ОБТП.

Таблица 10 – Технологические особенности получения клеточных препаратов

Название	Источник	Способ выделения	Преимущество	Ограничения
МСК КМ	Костный мозг	Центрифугирование	Однородные, можно длительно хранить, можно как алло/ так и ауто. Нет строгих возрастных ограничений для забора материала	Длительный срок получения из источника
МСК ЖТ	Жировая ткань	Механический, ферментативный	Однородные, можно длительно хранить, можно как алло/ так и ауто. Нет строгих возрастных ограничений для забора материала	Длительный срок получения из источника
МСК пупочного канатика	Пупочный канатик	Ферментативный, механический	Однородные, можно длительно хранить, можно как алло/ так и ауто	Длительный срок получения из источника. Биологический материал возможно получить только при рождении
МСК пуповины	Пуповина	Ферментативный, механический	Однородные, можно длительно хранить, можно как алло/ так и ауто	Длительный срок получения из источника. Биологический материал возможно получить только при рождении
ФБ десны	Десны	Ферментативный, механический	Однородные, можно длительно хранить, нет строгих возрастных ограничений для забора материала можно как алло/ так и ауто	Длительный срок получения из источника
ФБ кожи	Дерма кожи	Ферментативный, механический	Однородные, можно длительно хранить, можно как алло/ так и ауто. Нет строгих возрастных ограничений для забора материала	Длительный срок получения из источника
СВФ ЖТ	Жировая ткань	Ферментативный, механический	В тот же день	Только ауто, коморбидные истощенные пациенты
МНФ КМ	Костный мозг	Центрифугирование	В тот же день	Только ауто коморбидные истощенные пациенты

3.2. Характеристика первого компонента клеточного препарата – аллогенных дермальных фибробластов

Культивирование дермальных фибробластов является многоэтапным и длительным процессом. Однако в отличие от многих других клеточных культур культивирование фибробластов не требует специальных условий, что значительно упрощает процедуру, является гарантом безопасности и эффективности (Рисунок 12). Фибробласты широко используются в различных исследованиях [82, 156, 212].

Фибробласты, полученные *in vitro* и введенные в место повреждения, секретируют различные цитокины и факторы роста, которые стимулируют адгезию, пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток, вызывают ангиогенез и модифицируют воспалительный процесс. Они также продуцируют компоненты трехмерного внеклеточного матрикса, содержащий коллагены, протеогликаны и другие белки (Рисунок 12). Следовательно, микроокружение ран можно улучшить, контролируя пролиферацию клеток, стимулируя ангиогенез и синтез компонентов внеклеточного матрикса [191].

Данный механизм действия фибробластов стал решающим в выборе способа терапии БС, где важной задачей являлось ускорение процессов грануляции, ангиогенеза и восстановления эпителия.

В исследовании были использованы донорские дермальные фибробласты. Особенностью получения достаточного количества фибробластов в терапевтических целях является предварительное культивирование в течение нескольких недель, что может быть критичным для пациентов, нуждающихся в немедленном лечении. Помимо этого, получение аутологичных клеток у истощенных и возрастных пациентов с тяжелой соматической патологией сопряжено с рядом ограничений. У пациентов с онкологическими заболеваниями существует риск злокачественной трансформации клеток в процессе их культивирования. В таких случаях клеточная терапия с использованием аллогенных клеток становится важной альтернативой, особенно в контексте

заживления ран [15]. По данным литературы, вводимые извне клетки оказывают свое действие за счет выделения факторов роста, компонентов внеклеточного матрикса и базальной мембраны, они не прикрепляются и не покрывают рану на постоянной основе, и вскоре заменяются клетками-хозяевами. Однако в работе Vitacolonna M. и соавт. было показано, что клетки, засеянные на матрикс, которым был укрыт бронхиальный анастомоз, способны мигрировать и пролиферировать в ткани поврежденного бронха [245]. Кроме того, роль аллогенных клеток в процессе заживления раны заключается в ускорении эпителизации от краев раны и ускорении образования грануляций [252] (Рисунок 12). Важным преимуществом аллогенных фибробластов является их хранение в биобанке, а соответственно, они всегда готовы к применению, что значительно сокращает временные затраты.

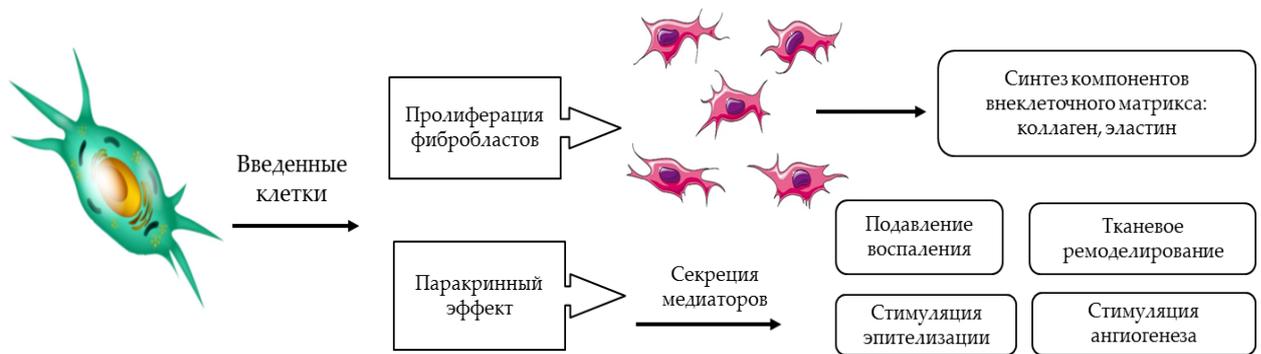


Рисунок 12 – Механизм действия введенных извне фибробластов

Основываясь на данных литературы и собственном опыте применения фибробластов для лечения других повреждений, мы использовали донорские фибробласты, полученные из Биобанка лаборатории. Донорские фибробласты выделяли из образца кожи здорового добровольца, после анкетирования, подписания информированного согласия и обследования на инфекции. Фибробласты культивировали в условиях класса чистоты «А» в помещениях класса чистоты «В», что гарантировало стерильность полученного клеточного продукта. Процесс культивирования определялся лабораторным регламентом и составлял 50 дней. Для культивирования были использованы культуральные флаконы и полная питательная среда, состоящая из раствора DMEM (Gibco, США), 10 % карантинизированной донорской плазмы АВ группы, получаемой из отделения переливания крови. После завершения культивирования качество полученных

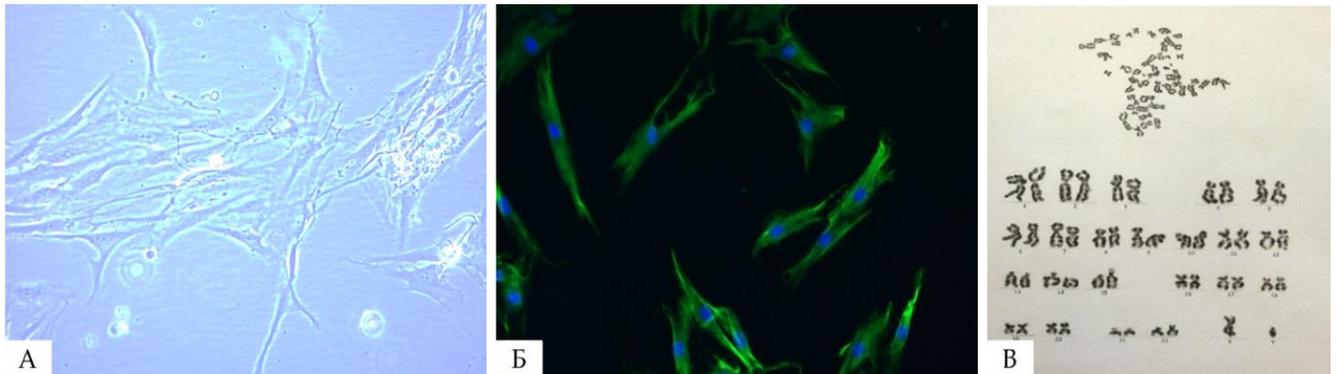
фибробластов подтверждали согласно требованиям спецификации на готовый продукт. Фибробласты замораживали в криовиалах в количестве 2×10^6 /мл и хранили в условиях жидкого азота при температуре -196°C . Перед применением аллогенные фибробласты размораживали при $t +37^\circ\text{C}$ в водяной бане. Все содержимое криовиал переносили в стерильную пробирку и ресуспендировали в питательной среде до объема 20–30 мл, затем центрифугировали 5 мин. – 300g. После удаления супернатанта осадок клеток в количестве 6 млн. ресуспендировали до нужного объема (2мл) в 0,9% физиологическом растворе NaCl. Готовый продукт (взвесь фибробластов) в пробирке упаковали в стерильную упаковку вместе со вторым компонентом и передавали для использования в отделение. На рисунке 13 представлен процесс подготовки культуры фибробластов к применению.



Примечание – А) выделение фибробластов из биологического материала (кожи);
Б) культивирование фибробластов в условиях лаборатории; В) криоконсервация фибробластов;
Г) вид готового продукта

Рисунок 13 – Процесс подготовки культуры фибробластов

Спецификация на готовый продукт (Приложение Г) включала в себя контроль качества аллогенных фибробластов: 1) морфологический анализ (подтверждение фибробластоподобного строения) (Рисунок 14А); 2) количественный анализ и определение жизнеспособности клеток (окраска трипановым синим); 3) иммуноцитохимическое исследование культуры клеток (окраска на виментин) (Рисунок 14Б), коллаген, α -sma, ki-67; 4) кариотипирование (Рисунок 14В); 5) иммунофенотипирование культуры клеток на проточном цитометре (Рисунок 15) 6) бактериологический контроль.



Примечание – А) морфологический анализ культуры клеток дермальных фибробластов; Б) иммуноцитохимический анализ дермальных фибробластов. Окраска виментином и DAPI; В) кариотип фибробластов

Рисунок 14 – Контроль качества аллогенных дермальных фибробластов

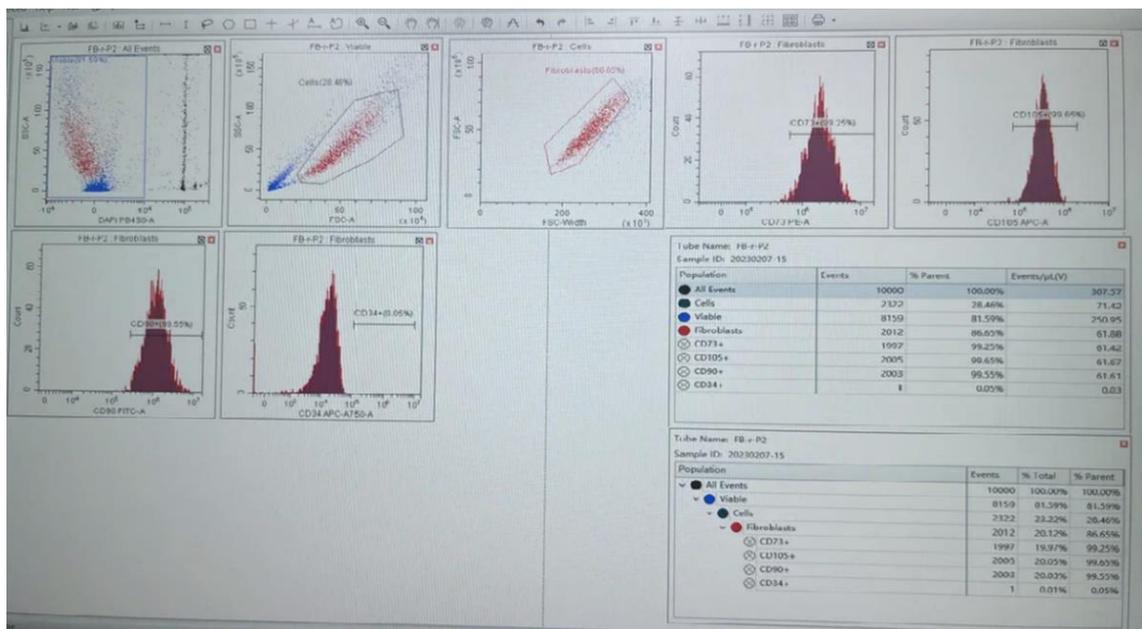


Рисунок 15 – Контроль качества аллогенных дермальных фибробластов.

Иммунофенотипирование

3.3. Характеристика второго компонента клеточного препарата – аутологичного лизата тромбоцитов

В качестве второго компонента был использован аутологичный лизат тромбоцитов, который представляет собой плазму, обогащенную тромбоцитами, активированную путем температурного лизиса. Данный процесс стимулирует разрушение тромбоцитов и высвобождение множества медиаторов, в том числе, факторов роста, которые оказывают плеоморфное действие на процессы заживления. Лизат тромбоцитов потенцирует действие фибробластов и способствует подавлению провоспалительных цитокинов и ограничению воспаления за счет влияния медиаторов на макрофаги, что улучшает заживление и регенерацию тканей, стимулирует рост новых капилляров и ускоряет эпителизацию при хронических ранах [153] (Рисунок 16).

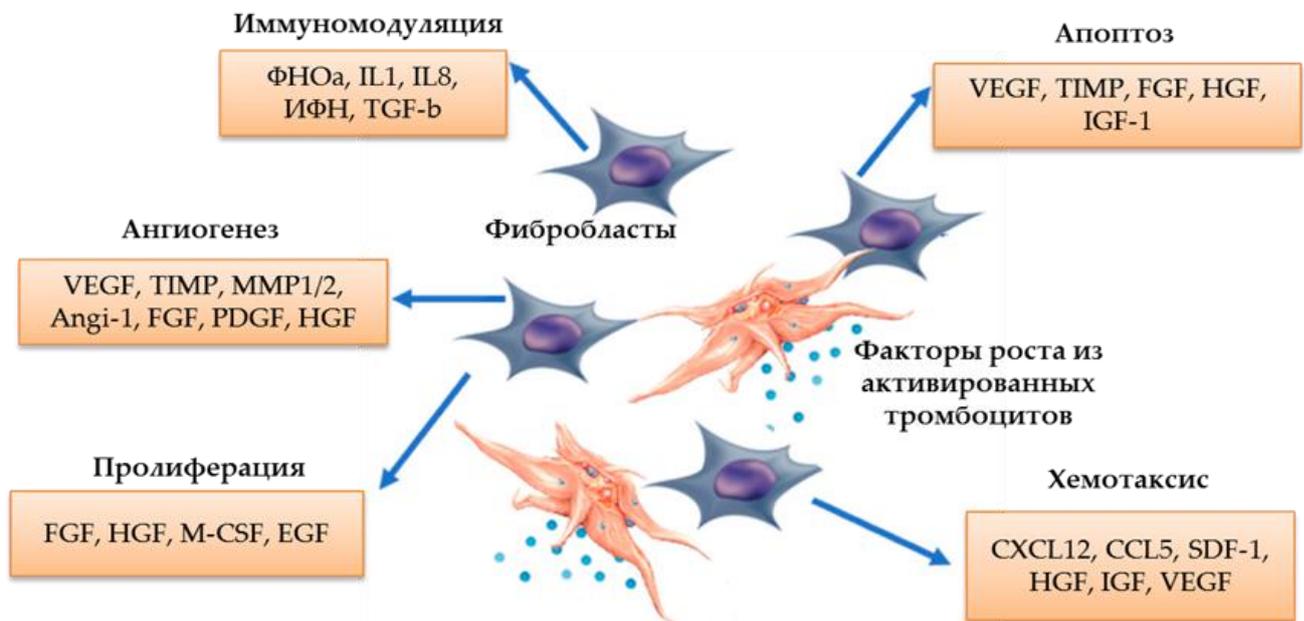


Рисунок 16 – Механизм действия активированных фибробластов

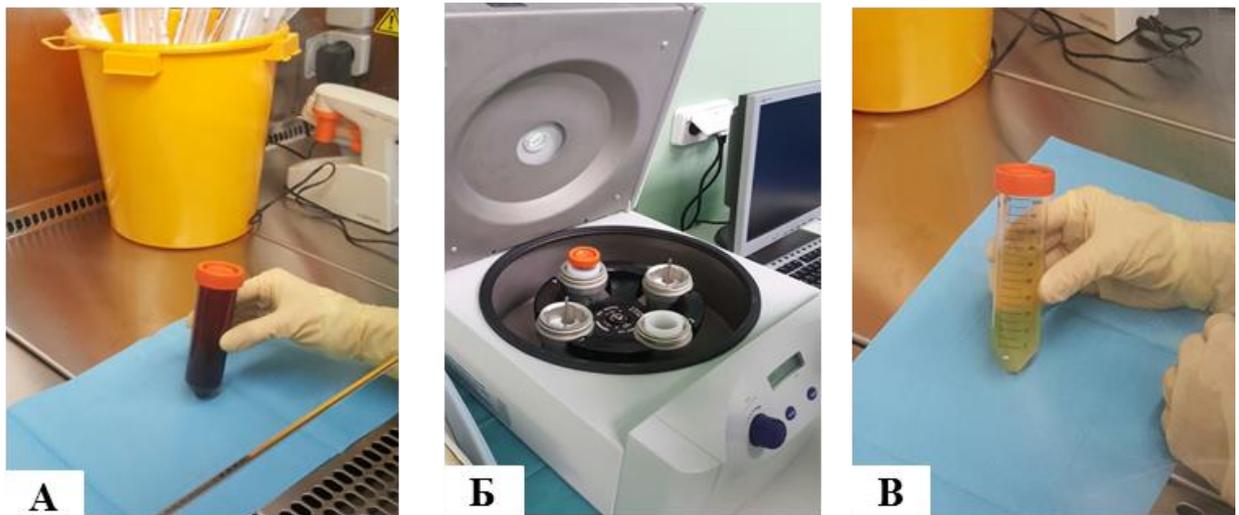
ОбТП представляет собой аутологичную плазму с повышенным содержанием тромбоцитов выше физиологической нормы без примеси эритроцитов и лейкоцитов, выделенную путем центрифугирования из собственной крови пациента [229].

Аутологичная ОБТП часто используется при оперативных вмешательствах, так как она является безопасными и надежным стимулятором заживления и оказывает отличный терапевтический эффект [140]. Доказано, что ОБТП инициирует процесс стимуляции при концентрации тромбоцитов равной 1000000/мкл в небольшом количестве плазмы [39].

ОБТП получают методом центрифугирования из периферической крови, заготовленной на антикоагулянте. Для дегрануляции тромбоцитов используют разные способы: перед применением в ОБТП вводят 10% хлорид кальция в соотношении 1:10 или 1:20, также применяют тромбин. Другой способ активации тромбоцитов путем их лизирования – это метод температурного воздействия (двойной глубокой заморозки-разморозки). Нами был выбран метод двойного температурного воздействия для получения лизата тромбоцитов, так как ионы кальция могут негативно повлиять на стенку бронха, вызвав некроз ткани.

Процесс получения лизата тромбоцитов включал в себя 2 этапа: 1) забор периферической крови и выделение плазмы, обогащенной тромбоцитами; 2) цикл заморозки – разморозки ОБТП с последующим получением готового продукта.

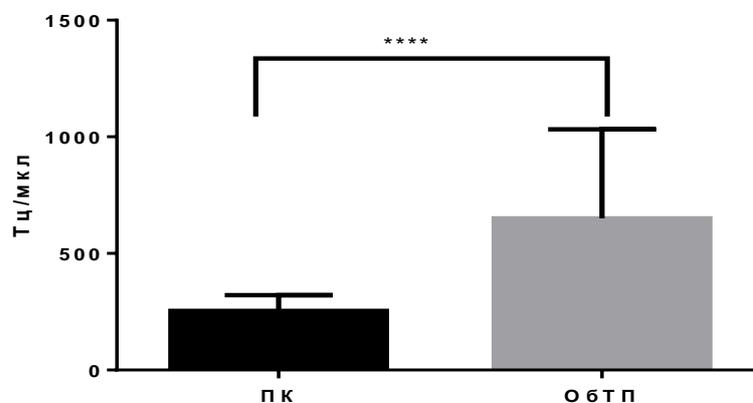
Периферическую кровь набирали в стерильную пробирку с гепарином объемом 50 мл (Рисунок 17А). Для получения аутологичной ОБТП был использован метод двойного центрифугирования: в режиме 15 мин – 2000 об/мин и затем в режиме 10 мин. – 3500 об/мин (Рисунок 17Б). После последнего центрифугирования осадок тромбоцитов ресуспендировали в небольшом объеме плазмы для получения ОБТП (Рисунок 17В). Пробирку помещали в морозильную камеру –80°С для разрушения тромбоцитов. Перед первым применением пробирку размораживали при t 37°С, центрифугировали 10 мин со скоростью 3500 об/мин. Готовый лизат тромбоцитов аликвотировали по 2 мл в стерильные пробирки. Аликвоты хранили при t –20°С для последующего использования. В день манипуляции аликвоту быстро размораживали при t +37°С, упаковывали в стерильную упаковку вместе с первым продуктом.



Примечание – А) исходный биологический материал; Б) центрифугирование; В) плазма, обогащенная тромбоцитами

Рисунок 17 – Процесс получения аутологичной ОБТП

На всех этапах получения ОБТП и готовый продукт (лизат тромбоцитов) отправляли на исследования: 1) общеклинический анализ крови для подтверждения содержания необходимого количества тромбоцитов в ОБТП (Рисунок 18); 2) бактериологическое исследование на стерильность (Рисунок 18); 3) иммуноферментный анализ для оценки функциональной активности готового продукта (Рисунок 19). В ОБТП, в среднем, содержалось в 3 раза больше тромбоцитов – $1098 \pm 58,68 \times 10^9/\text{Л}$, по сравнению с исходным уровнем – $312,3 \pm 16,62 \times 10^9/\text{Л}$, $p < 0,0001$.



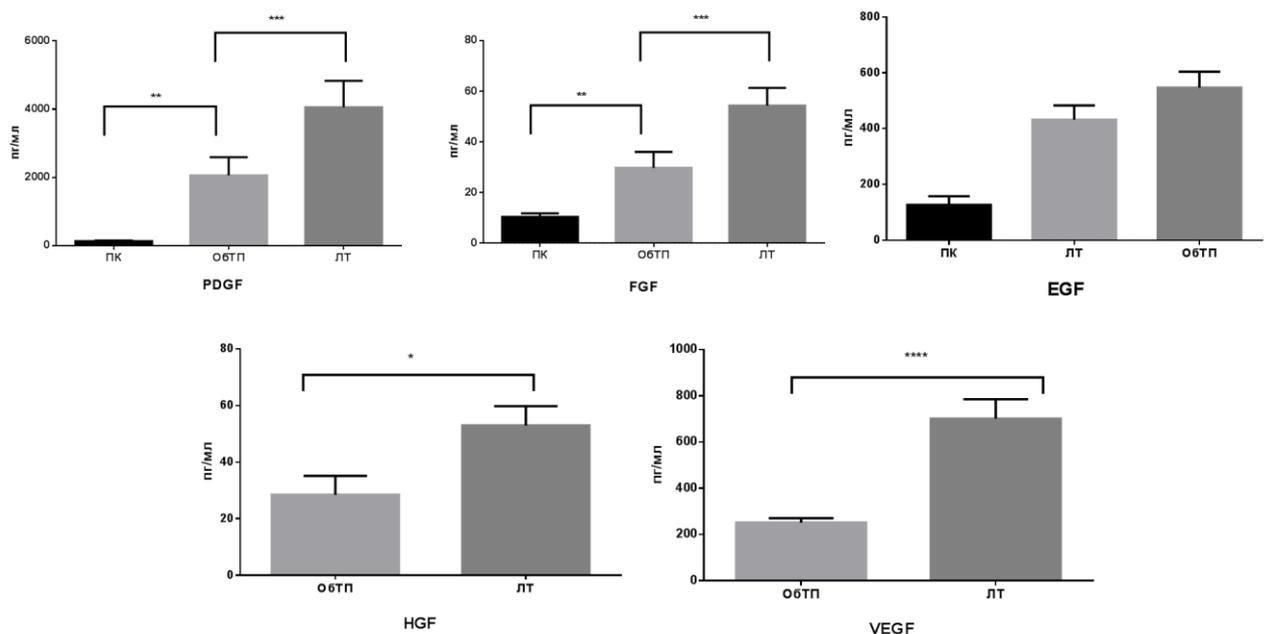
Примечание – ПК – периферическая кровь; ОБТП – плазма, обогащенная тромбоцитами
 Рисунок 18 – Сравнительный анализ содержания тромбоцитов в цельной крови после двукратного центрифугирования



Примечание – Метод исследования с помощью флаконов ВаТ/ALERT для качественного обнаружения и выделения аэробных и анаэробных микроорганизмов

Рисунок 19 – Контроль стерильности

После разморозки и освобождения медиаторов из ОБТП медиаторную нагрузку контролировали иммуноферментным методом (Рисунок 20).



Примечание – PDGF – тромбоцитарный фактор роста, FGF – фактор роста фибробластов, EGF – эпидермальный фактор роста, HGF – гепатоцитарный фактор роста, VEGF – васкулоэндотелиальный фактор роста, ПК – периферическая кровь, ОБТП – в обогащенной тромбоцитами плазме, ЛТ – лизат тромбоцитов

Рисунок 20 – Диаграммы изменения концентрации различных факторов роста в исходной цельной крови, ПК, ОБТП и в готовом продукте – ЛТ

В день применения оба компонента упаковывали в индивидуальную первичную упаковку (стерильная пробирка с завинченной крышкой), а затем в стерильную вторичную упаковку и передавали в операционную или в отделение.

Резюме 3

На основании обзора литературы и ранее проведенных исследований в качестве клеточного препарата для профилактики и лечения бронхиальных свищей был выбран двухкомпонентный клеточный препарат: суспензия аллогенных дермальных фибробластов и аутологичный лизат тромбоцитов. Оба компонента не представляют сложности в изготовлении, безопасны в применении, что подтверждено многочисленными исследованиями, имеют длительные сроки хранения.

ГЛАВА 4

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО ПРЕПАРАТА

4.1. Обоснование создания экспериментальной модели повреждений трахеобронхиального дерева на крупном животном

Многие исследования, посвященные различным вариантам лечения БС, были связаны с созданием экспериментальной модели животного. Чаще всего при этом производили пневмонэктомию и формировали фистулу в культе главного бронха. Большинство исследований осуществляли на небольших лабораторных животных – крысах и кроликах, реже – на свиньях и козах.

Общеизвестно, что эволюционно человек и обезьяна наиболее близки. Поэтому предлагаемый в диссертационной работе метод был апробирован на нечеловекообразных приматах. Это преимущество также подтвердили в своей работе V. Agrba et al. в 2012 году [158]. По их мнению, на приматах наиболее эффективно проследить процессы, которые происходят в организме человека. В доклинической части работы мы также учитывали доступность изучения процессов регенерации на приматах.

4.2. Оценка результатов применения клеточного препарата на экспериментальной модели

В научное исследование были включены 22 половозрелых павианов мужского пола. Средний возраст животных составил $11,25 \pm 2,8$ лет, вес – $21,3 \pm 3,4$ кг, рост $88,65 \pm 2,6$ см. Они были разделены на 2 группы: опытная включала 15

животных (с применением предлагаемого клеточного продукта) и контрольная включала 7 животных. В контрольной группе вместо препарата использовали физиологический раствор (NaCl 0,9 %).

Послеоперационный период был идентичен у всех животных, как в основной, так и в контрольной группах. Летальных исходов не было. В течение 7 дней им проводили профилактическую антибиотикотерапию цефтриаксоном в дозировке 100 мг. Каждую особь после операции содержали в отдельной клетке. Согласно разработанному протоколу исследования им регулярно проводили витальные и физиологические исследования, включающие оценку сознания, активности, аппетита, а также измеряли температуру, частоту дыхания.

Клинические критерии оценки, такие как аппетит, физиологические показатели и активность были в норме на протяжении всего периода наблюдения. Показатели приматов опытной группы не отличались от соответствующих показателей приматов контрольной группы экспериментальных животных.

Перед началом эксперимента температура тела приматов находилась в пределах нормальных значений. В послеоперационном периоде показатели температуры были повышены в обеих группах в течение 7 дней, после чего вернулись к нормальным значениям (Таблица 11). Статистически достоверных различий между группами не подтвердилось, $p > 0,05$.

Таблица 11 – Динамика изменения температуры в разные дни наблюдения

Группа	День наблюдения	Среднее значение, М	Стандартное отклонение, SD	Min	Max	Медиана, Me	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Опытная	0 день	38,5	0,16	38,2	38,7	38,4	38,3	38,6
	3 день	39,2	0,23	38,9	39,6	39,2	39	39,4
	7 день	38,9	0,17	38,7	39,3	38,9	38,8	39,1
	14 день	38,8	0,13	38,6	39	38,8	38,7	38,9
	21 день	38,8	0,15	38,6	39	38,85	38,65	38,9
	3 мес.	38,6	0,13	38,4	38,7	38,6	38,45	38,7
	6 мес.	38,4	0,14	38,3	38,5	38,4	38,3	38,5
Контрольная	0 день	38,43	0,18	38,2	38,7	38,4	38,3	38,6
	3 день	39,29	0,23	39	39,6	39,3	39	39,5
	7 день	39,03	0,20	38,8	39,3	39	38,88	39,23
	14 день	38,75	0,13	38,6	38,9	38,75	38,63	38,88
	21 день	38,80	0,14	38,7	38,9	38,8	38,7	38,9

Особое внимание уделялось свободному прохождению воздуха по трахее, что оценивалось визуально по дыхательным движениям и аускультативно с целью исключения наличия стридора. При динамическом наблюдении за частотой дыхания в до- и послеоперационном периодах разницы между группами не было выявлено, данные были сопоставимы (Таблица 12).

Таблица 12 – Динамика частоты дыхания в разные дни наблюдения

Группа	День наблюдения	Средне значение, М	Стандартное отклонение, SD	Min	Max	Медиана, Me	Нижний квартиль	Верхний квартиль
Опытная	0 день	33,27	2,712	29	38	34	31	35
	3 день	38,67	2,38	32	42	39	38	40
	7 день	38,93	1,141	37	41	39	38	40
	14 день	38,91	0,7006	38	40	39	38	39
	21 день	39,5	1,604	37	42	39,5	38,25	40,75
	3 мес.	33,5	3,109	29	36	34,5	30,25	35,75
	6 мес.	33	1,414	32	34	33	32	34
Контрольная	0 день	33	2,646	29	37	33	31	35
	3 день	37,71	1,89	35	40	38	36	40
	7 день	39,17	1,169	38	41	39	38	40,25
	14 день	39	0,8165	38	40	39	38,25	39,75
	21 день	38,5	0,7071	38	39	38,5	38	39

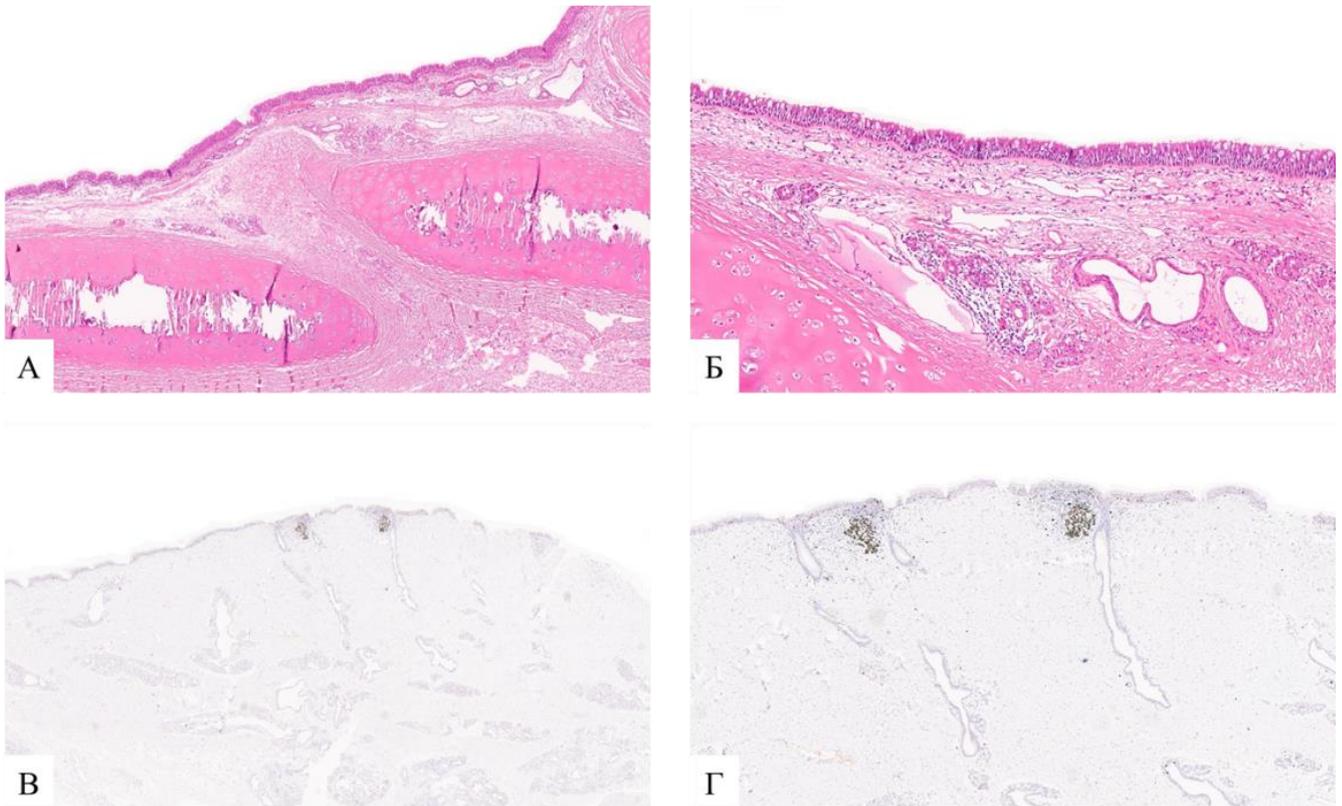
Регулярно выполняли лабораторные исследования периферической крови. Инструментальные методы диагностики, согласно протоколу, планировались при выявлении клинических нарушений. Однако ни в основной, ни в контрольной группах этого не было зафиксировано. Рентгенологическое исследование грудной клетки и/или фибробронхоскопия для выявления послеоперационных осложнений животным не потребовались. В группе приматов, у которых использовали предлагаемый двухкомпонентный клеточный препарат, не было аллергических реакций, признаков развития интоксикации. Таким образом, объем оперативного вмешательства и манипуляции с животными не привели к нарушению физиологического состояния животных обеих групп.

4.3. Сравнительный морфологический анализ динамики раневых процессов в послеоперационном периоде

Животным выполнялось 2 типа операций: пневмонэктомия с формированием культи бронха и циркулярная резекция трахеи с формированием трахеального анастомоза конец в конец. Для изучения влияния клеточного препарата на процессы заживления ткани (бронха и трахеи) после повреждения был проведен сравнительный анализ результатов гистологических и иммуногистохимических исследований в разные сроки наблюдения.

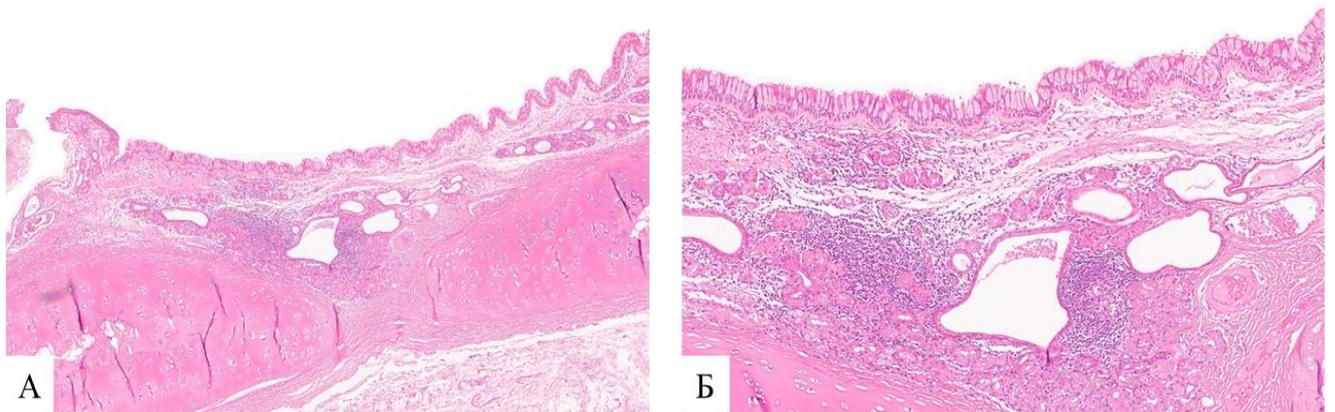
В раннем послеоперационном периоде, на 3-и сутки, в обеих группах отмечена схожая картина. В опытной группе (n=1) слизистая поверхность выстлана многорядным однослойным эпителием с очаговыми дефектами и очагами гиперплазии с увеличением бокаловидных клеток и слизью в них, количество слоев эпителия достигает 5, в собственной пластинке выявлен незначительный лимфомакрофагиальный инфильтрат, сосуды полнокровны, наблюдаются участки кровоизлияния, хрящи нормальной структуры (Рисунок 21А,Б). В подслизистом слое с помощью маркера Ki-67 были обнаружены участки пролиферирующих клеток, предположительно мезенхимальных (Рисунок 21В,Г).

Через 3-е суток после операции у приматов контрольной группы (n=1) морфологическая картина соответствовала выраженному воспалению: незначительное количество сосудов, капилляры полнокровны, очаговая инфильтрация клетками лимфомакрофагального ряда, более значительная чем в опытной группе (Рисунок 22А,Б).



Примечание – Признаки воспаления в зоне повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. Ув. 50×; Б) Ув.100×; Иммуногистохимическая реакция. Экспрессия Ki-67 в подслизистом слое. В) Ув. 10×; Г) Ув.50×

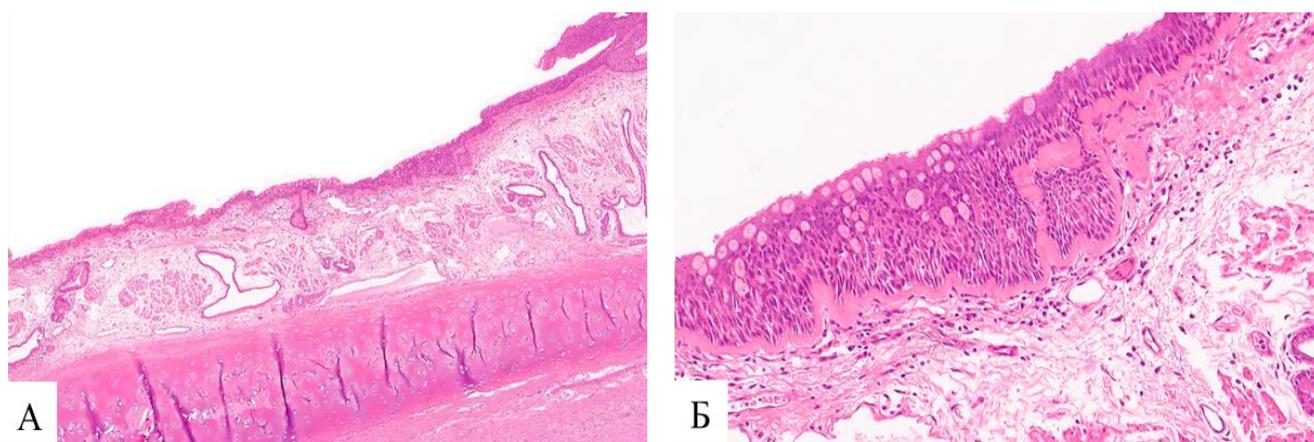
Рисунок 21 – Гистологическое исследование опытной группы, 3-и сутки



Примечание – Полнокровные капилляры и лимфогистиоцитарная инфильтрация слизистой оболочки. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 50×; Б) Ув.100×

Рисунок 22 – Гистологическое исследование контрольной группы, 3-и сутки

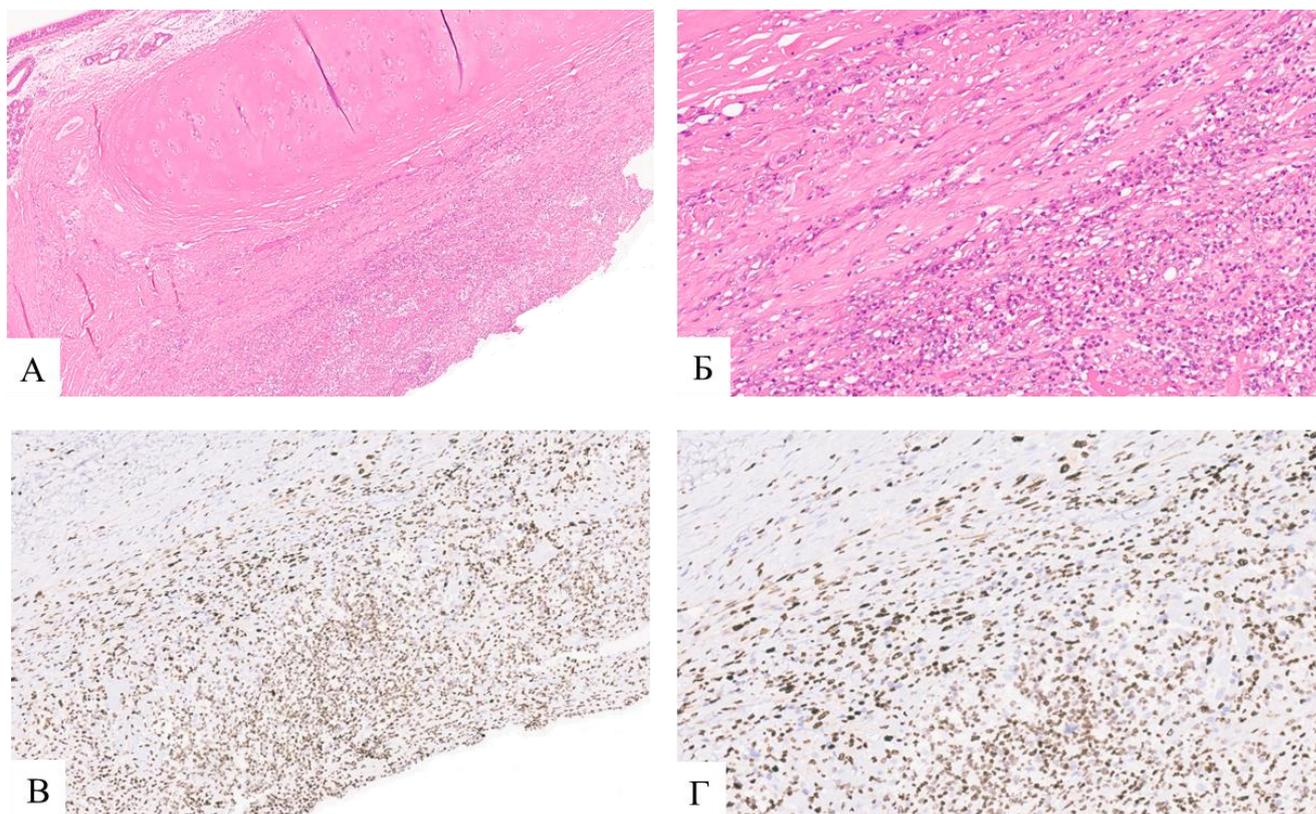
На 7-е сутки в опытной группе (n=3) были обнаружены зоны дефекта эпителия с участками регенерации в виде «наползания» эпителия с краев, значительно выраженная пролиферация базальных клеток слизистой оболочки (Рисунок 23А,Б). Признаки экссудативных и инфильтративных проявлений, а также некротических изменений отсутствовали. Наблюдалась картина, характеризующаяся тенденцией к стиханию воспалительных проявлений. Гранулемы инородных тел формировались вокруг лигатур и состояли из малодифференцированных клеток соединительной ткани, гигантских многоядерных клеток, макрофагов, неоангиогенеза, фибробластов и тонких коллагеновых волокон. Таким образом, уже к этому времени в опытной группе сформировалась незрелая рубцовая ткань с преобладанием фибробластов и коллагеновых волокон с относительно минимальными воспалительными проявлениями.



Примечание – Признаки пролиферации эпителия в зоне повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 100×; Б) Ув.200×

Рисунок 23 – Гистологическое исследование опытной группы, 7-е сутки

За пределами хрящевых колец, в фиброзном слое были обнаружены скопления мононуклеарных клеток, предположительно это место введения фибробластов (Рисунок 24А, Б). Для идентификации природы этих клеток было выполнено иммуногистохимическое окрашивание на маркеры: ki67, CD68, CD15, CD31. Выявленные клетки обладали выраженной пролиферативной активностью, подтвержденной Ki-67 (Рисунок 24В, Г).

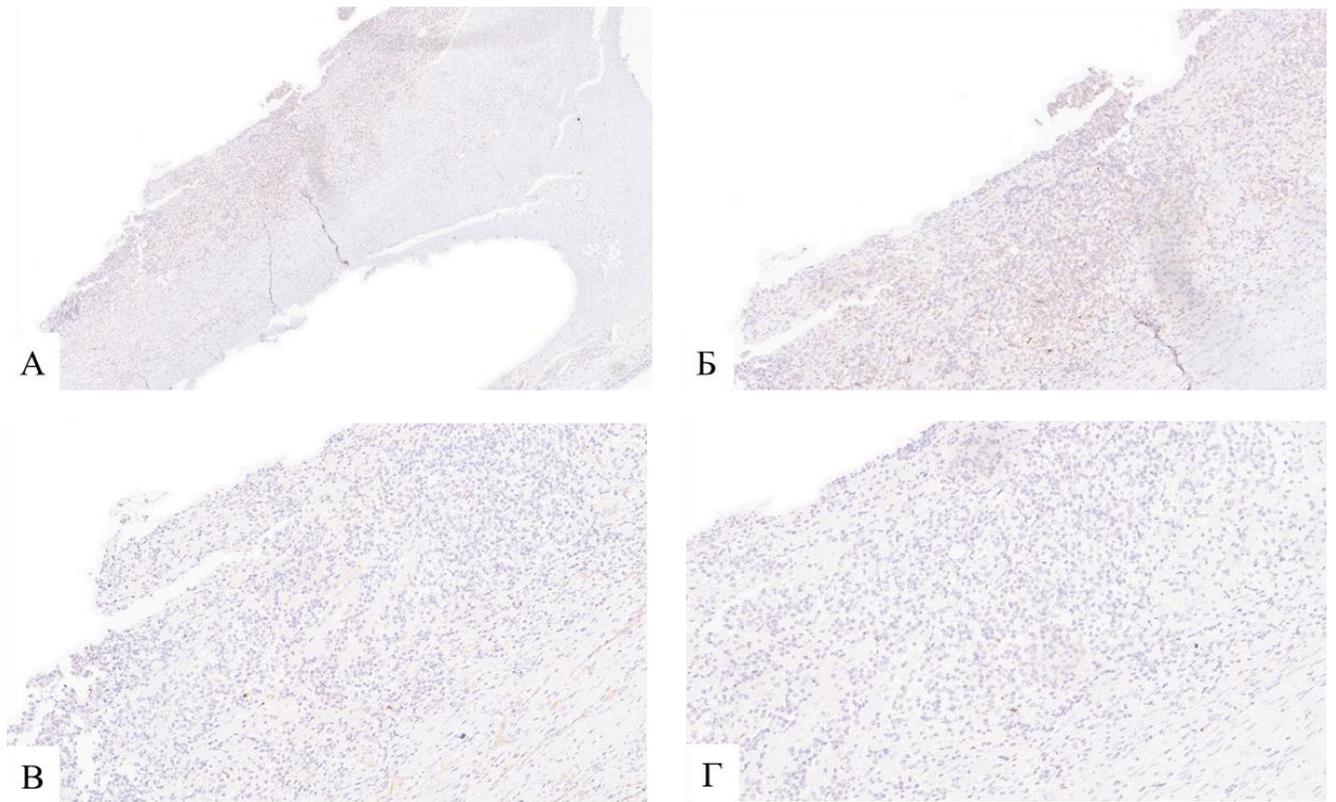


Примечание – Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 50×; Б) Ув.100×

Иммуногистохимическая реакция. Экспрессия Ki-67; В) Ув. 100×; Г) Ув.200×

Рисунок 24 – Гистологическое исследование опытной группы, зона введения клеток, 7-е сутки

При этом отсутствовала экспрессия маркеров моноцитарно-макрофагального ряда (CD68), также клетки не экспрессировали гранулоцитарный маркер – CD15 и были негативны по экспрессии эндотелиального маркера – CD 31 (Рисунок 25). Было предположено, что это фибробласты, введенные нами, так как маркеров клеточной дифференцировки выявлено не было. Однако однозначное утверждение о пролиферации введенных нами или эндогенно привлеченных фибробластов затруднено, поскольку клетки не были мечены. Тем не менее, проведенный анализ подтверждает фибробластную природу данных клеток, их локализацию в области введения и наличие пролиферативной активности.

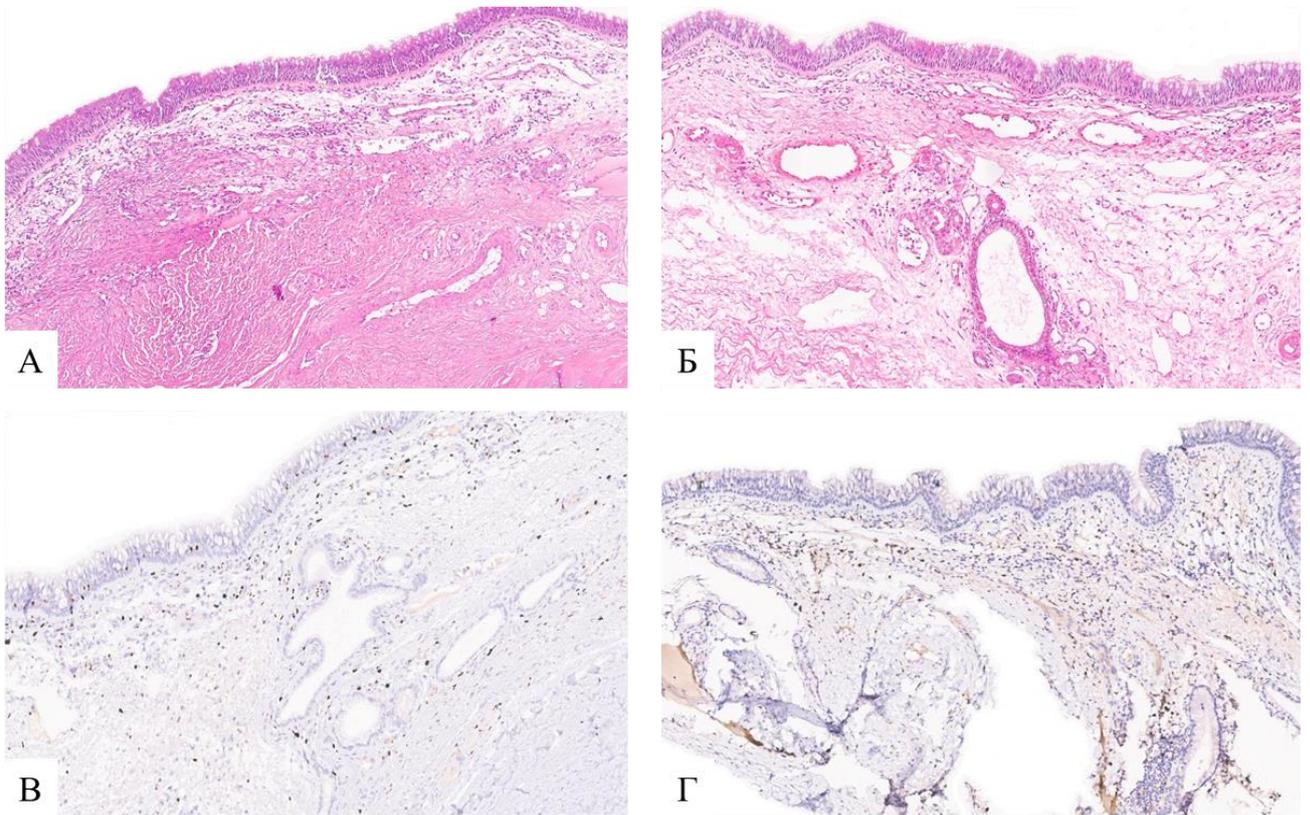


Примечание – Экспрессия CD68. А) Ув. 50×; Б) Ув.200×; В) Экспрессия CD31. Ув. 200×;
Г) Экспрессия CD 15. Ув.200×

Рисунок 25 – Иммуногистохимическая реакция. Зона введения клеток, 7-е сутки

На 7-ые сутки после операции у приматов контрольной группы (n=2) выявлены аррозивные дефекты эпителия, воспалительно-клеточная инфильтрация диффузная, слабой интенсивности, в подслизистом слое капилляры полнокровные с элементами стаза, в сравнении с 3-ими сутками уменьшилось кровенаполнение сосудов (Рисунок 26А,Б). Слабой пролиферативной активностью обладали клетки подслизистого слоя, диффузно расположенные, что свидетельствовало о начинающихся процессах образования грануляционной ткани (Рисунок 26В). В сравнении с опытной группой эти процессы были не выражены, а превалировали процессы инфильтративного характера, что подтверждалось окрашиванием на маркер клеток моноцитарного ряда CD-68: умеренная реакция в подслизистом слое (Рисунок 26Г).

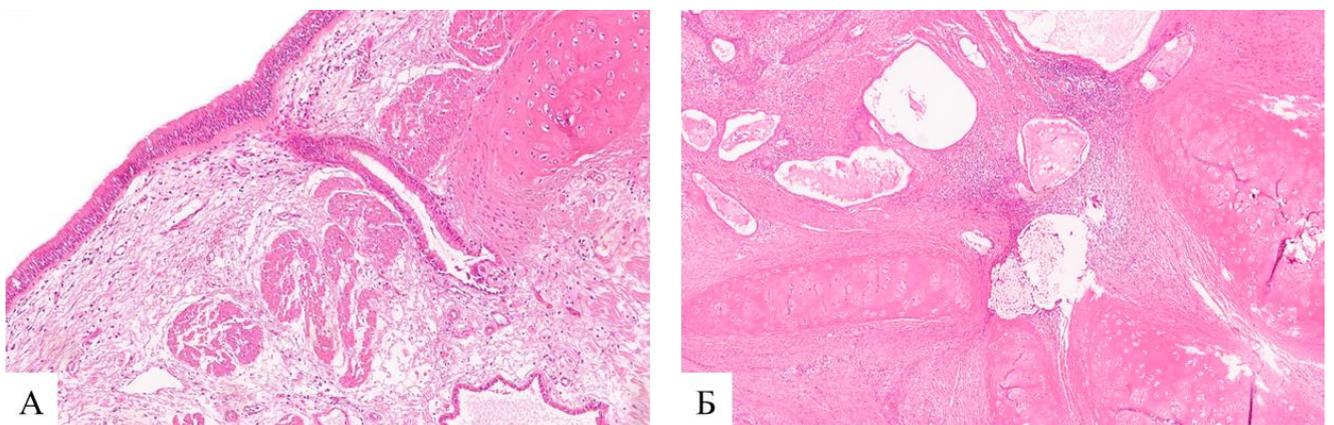
Дальнейшее гистологическое мониторингирование произвели на 14-е сутки после операции как для опытной, так и для контрольной групп.



Примечание – Зона повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 50×; Б) Ув.100×. Иммуногистохимическая реакция. В) Экспрессия Ki-67. Ув. 200×; Г) Экспрессия CD68. Ув.200×

Рисунок 26 – Гистологическое исследование контрольной группы, 7-е сутки

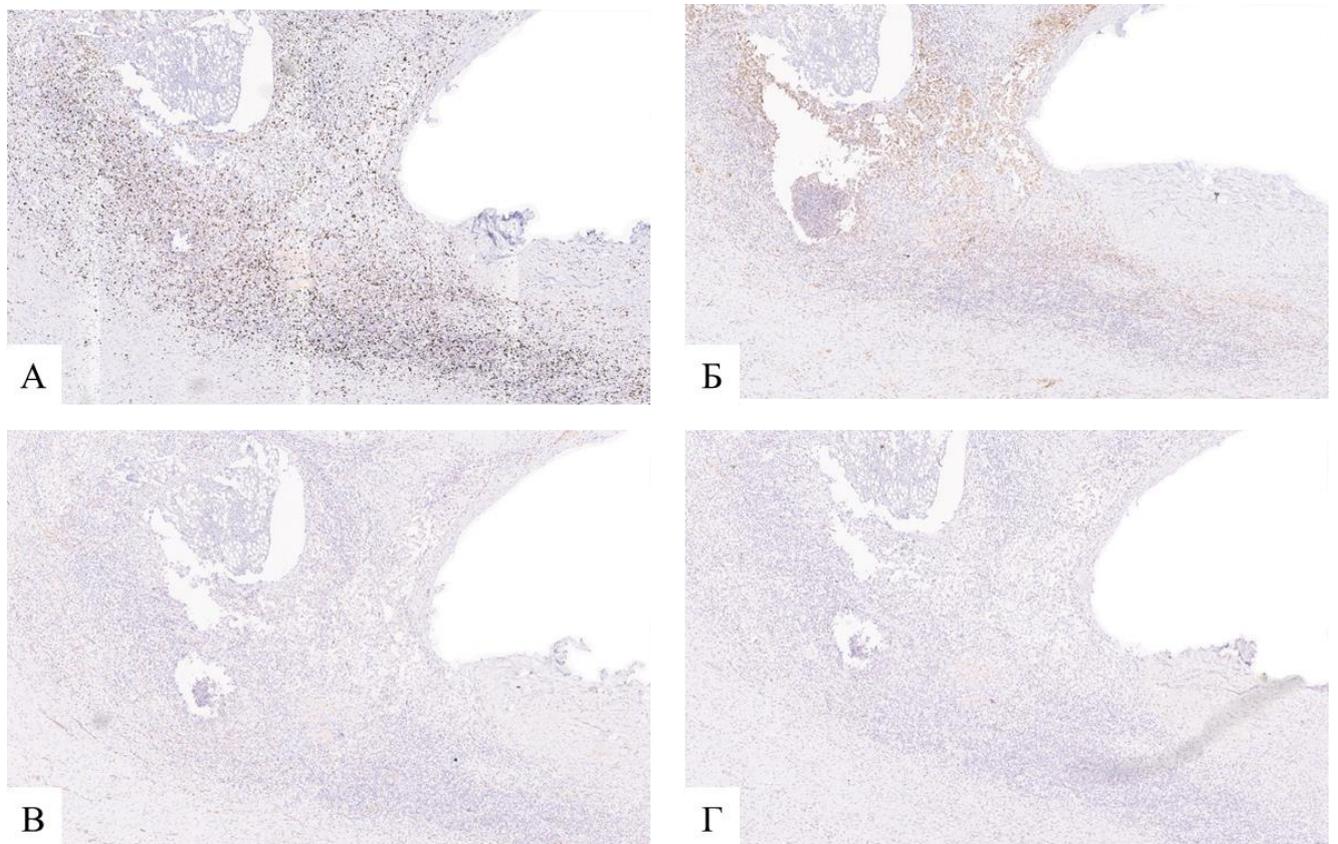
В опытной группе (n=3) в области лигатур клеточная инфильтрация, признаков повреждения нет, проявления воспаления выражены слабо, сформирована рыхлая соединительная ткань без фиброзирования, много вытянутых фибробластов, эпителий восстановился полностью (Рисунок 27).



Примечание – Зона повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 50×; Б) Ув.100×

Рисунок 27 – Гистологическое исследование опытной группы, 14-е сутки

Обнаруженное вокруг лигатуры скопление клеток было дополнительно изучено иммуногистохимически (Рисунок 28). Часть клеток, непосредственно вокруг лигатуры, экспрессировала маркер CD68, что свидетельствовало о наличии макрофагальных клеток и формировании гранулемы инородных тел, а также уже в толще ткани были обнаружены клетки с выраженной экспрессией ki-67, которые не экспрессировали ни один из маркеров: CD68, CD31, CD15. Это были молодые пролиферирующие фибробласты, среди них также были и зрелые вытянутой формы клетки. Полученные результаты подтверждали преобладание регенеративных процессов.



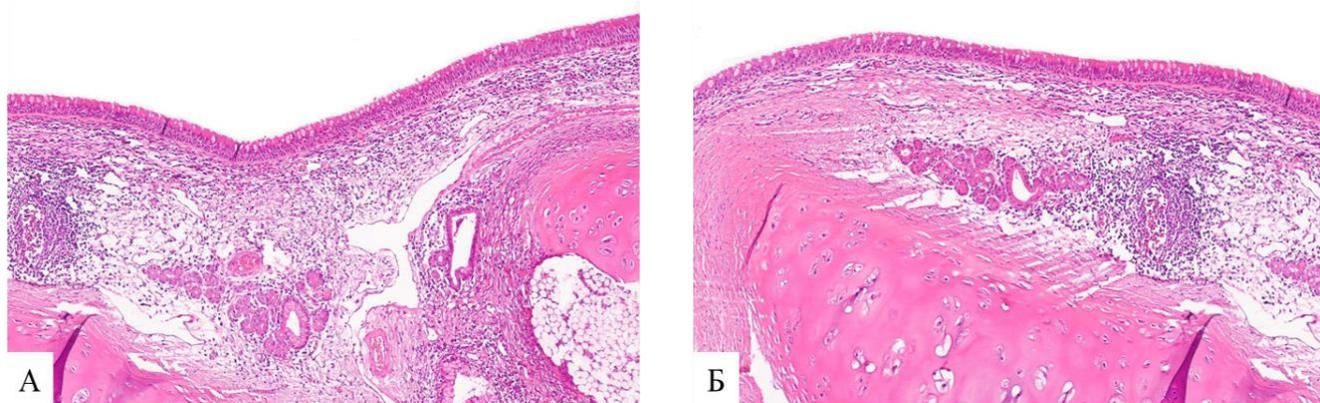
Примечание – А) Экспрессия Ki-67. Ув. 100×; Б) Экспрессия CD68. Ув. 100×; В) Экспрессия CD31. Ув. 100×; Г) Экспрессия CD 15. Ув.100×

Рисунок 28 – Иммуногистохимическая реакция в опытной группе, 14-е сутки

В отличие от результатов опытной группы в контрольной группе (n=2) в этот же период наблюдалась иная картина (Рисунок 29). Гиперплазированный эпителий был представлен активно пролиферирующим базальными клетками, что

свидетельствовало о гиперрегенерации. Под базальной мембраной сохранялась значительная воспалительно-клеточная реакция, выраженная макрофагальная инфильтрация. В подслизистом слое определялись очаги нарушения микроциркуляции с отеком и диапедезными кровоизлияниями. Вокруг шовного материала был обнаружен тонкий слой соединительной ткани, выраженная лимфомакрофагальная инфильтрация, фиброз с очагами рубцового замещения. Хрящевая ткань не была изменена структурно и соответствовала норме.

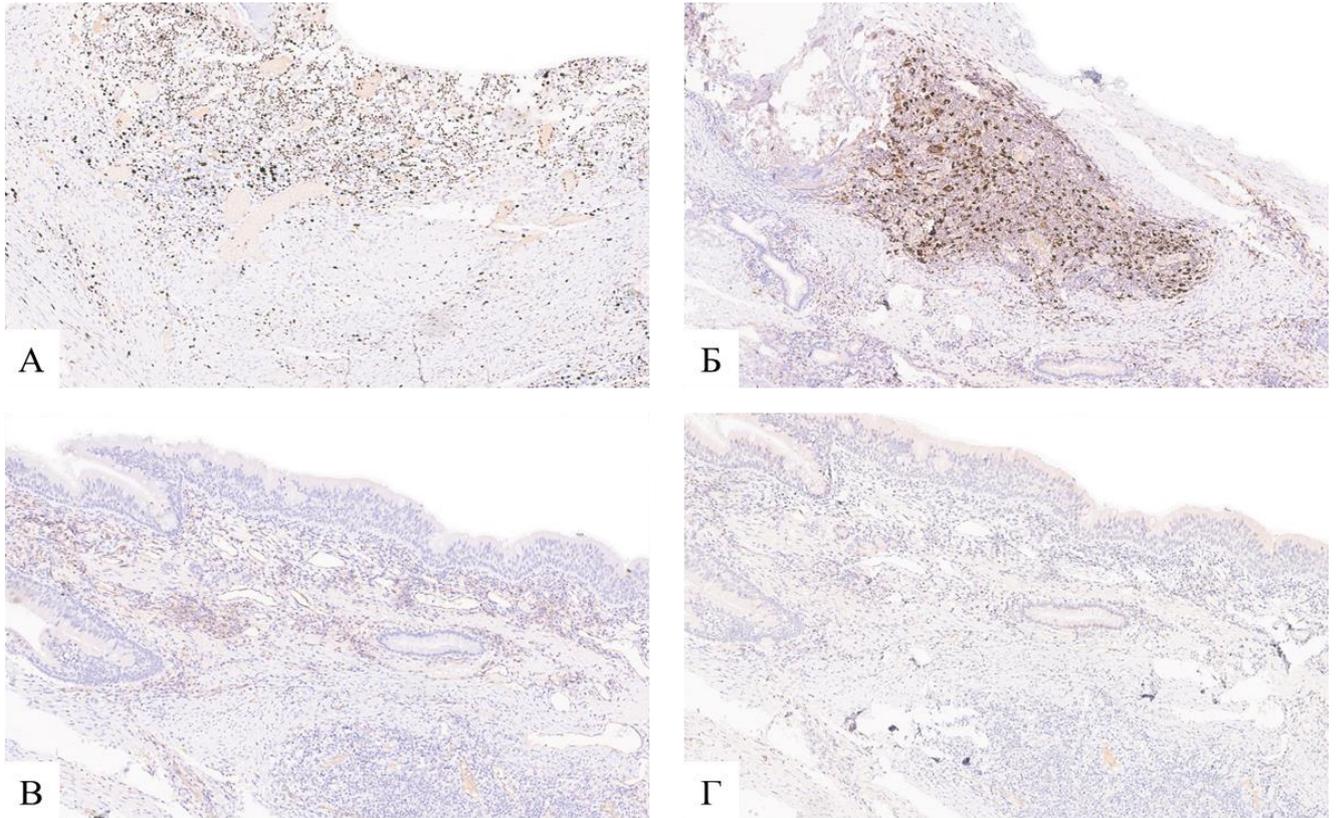
Несмотря на пролиферацию базального эпителия, наличие разрастания фиброзной ткани свидетельствовало о худшем прогнозе, чем в опытной группе, так как впоследствии это могло привести к фиброзу и возможной ишемии органа.



Примечание – Зона повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 100×; Б) Ув.100×

Рисунок 29 – Гистологическое исследование контрольной группы, 14-е сутки

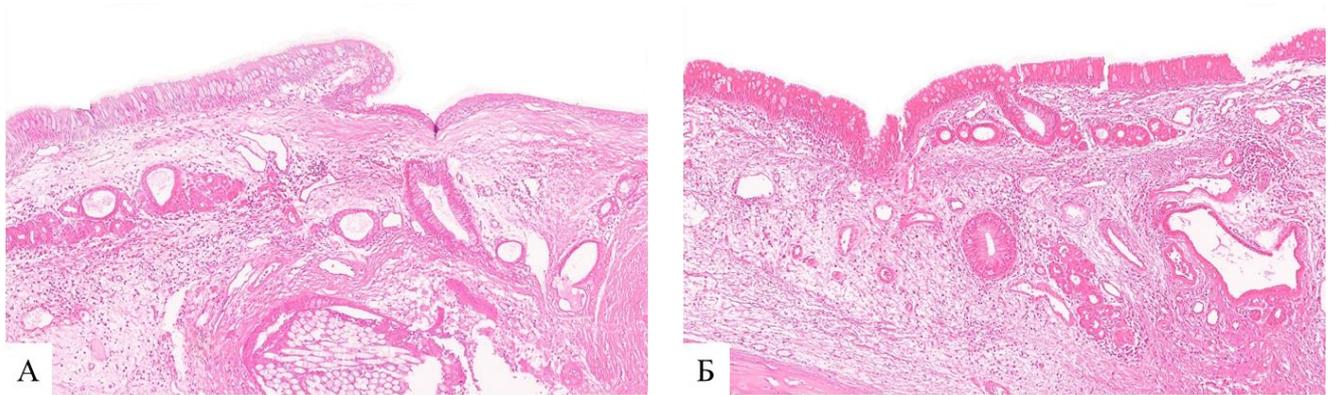
В зоне повреждения определяется умеренная пролиферативная активность клеток (Рисунок 30А) в подслизистом слое, подтверждающая наличие зоны образования соединительной ткани. При этом также в подслизистом слое вокруг лигатуры обнаружено скопление клеток макрофагального ряда, подтверждено выраженной экспрессией CD68 (Рисунок 30Б). Активная сосудистая реакция, выявленная при гистологическом окрашивании, была также диагностирована умеренным окрашиванием с помощью маркера CD31 (Рисунок 30В).



Примечание – Зона повреждения. А) Экспрессия Ki-67. Ув. 100×; Б) Экспрессия CD68. Ув. 100×; В) Экспрессия CD31. Ув. 100×; Г) Экспрессия CD 15: Ув.100×

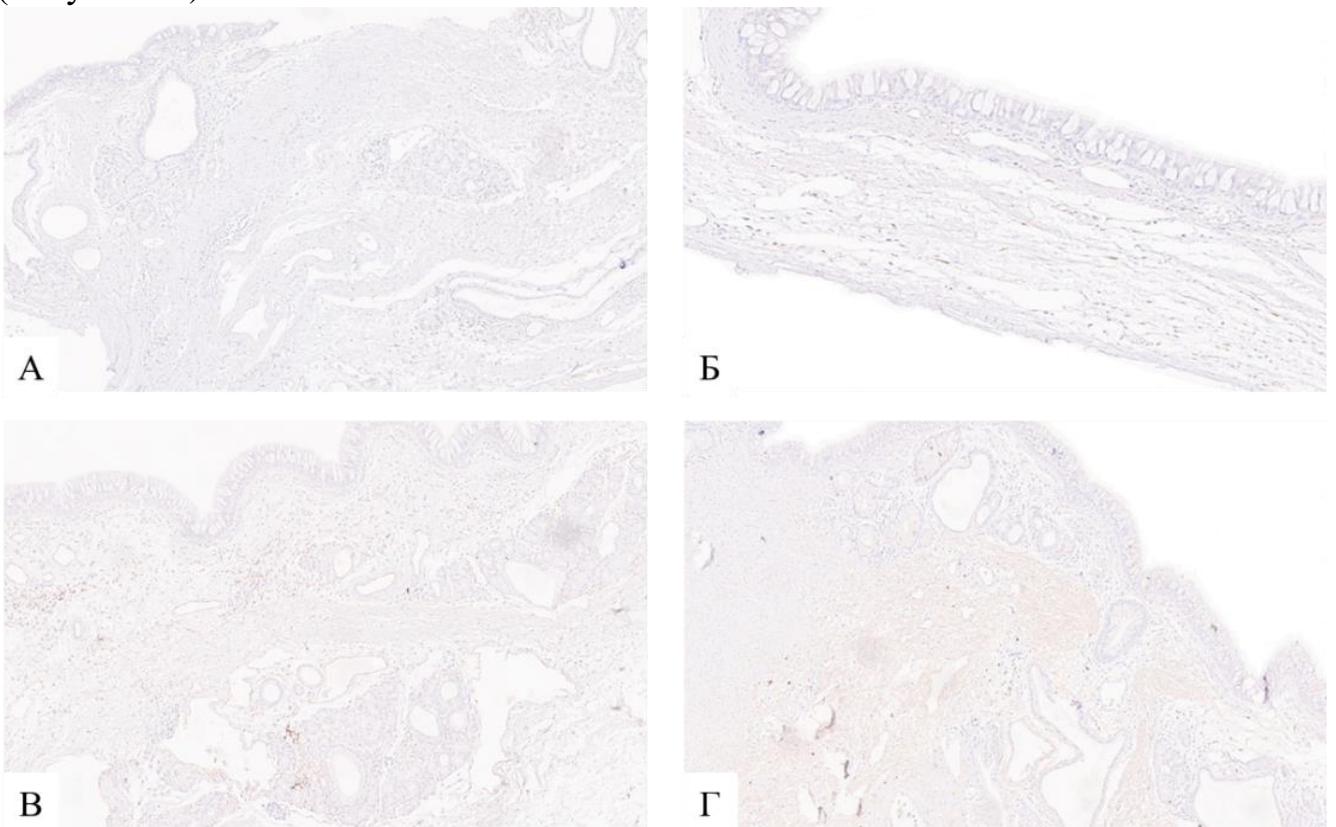
Рисунок 30 – Иммуногистохимическая реакция в контрольной группе, 14-е сутки

Последующее наблюдение на 21-е сутки показало полное восстановление непрерывности эпителиальной оболочки в опытной группе (n=3) (Рисунок 31), которая была представлена многорядным мерцательным эпителием. По линии швов определялась оформленная соединительная ткань, расположенная в подслизистом слое, с коллагеновыми волокнами, направленными в одну сторону, соответствующую натяжению.



Примечание – Зона повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 100×; Б) Ув.100×
Рисунок 31 – Гистологическое исследование опытной группы, 21-е сутки

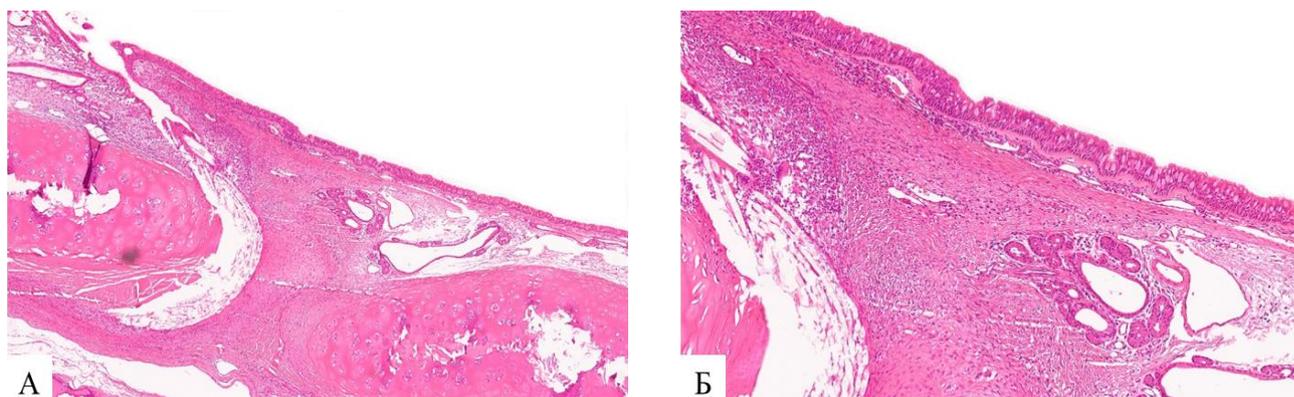
Признаки воспалительных изменений отсутствовали (отрицательное окрашивание клеток моноцитарного и гранулоцитарного рядов). Проллиферативная активность клеток была снижена, а реакция маркера эндотелиальных клеток CD31, отражающего развитие сосудистой новообразовательной сети, проявлялась слабо. (Рисунок 32).



Примечание – Зона повреждения А) Экспрессия Ki-67. Ув. 100×; Б) Экспрессия CD68. Ув. 100×; В) Экспрессия CD31. Ув. 100×; Г) Экспрессия CD 15: Ув.100×

Рисунок 32 – Иммуногистохимическая реакция в контрольной группе, 14-е сутки

Несколько другую морфологическую картину обнаружили в контрольной группе (n=2). В подслизистом слое обнаружена плотная волокнистая ткань с разной ориентацией волокон. Эпителий был полностью восстановлен; однако в подслизистом слое сохранялась неравномерная лейкоцитарная инфильтрация с преобладанием лимфоцитов. Вокруг лигатуры сформировалась гранулема инородных тел. (Рисунок 33).

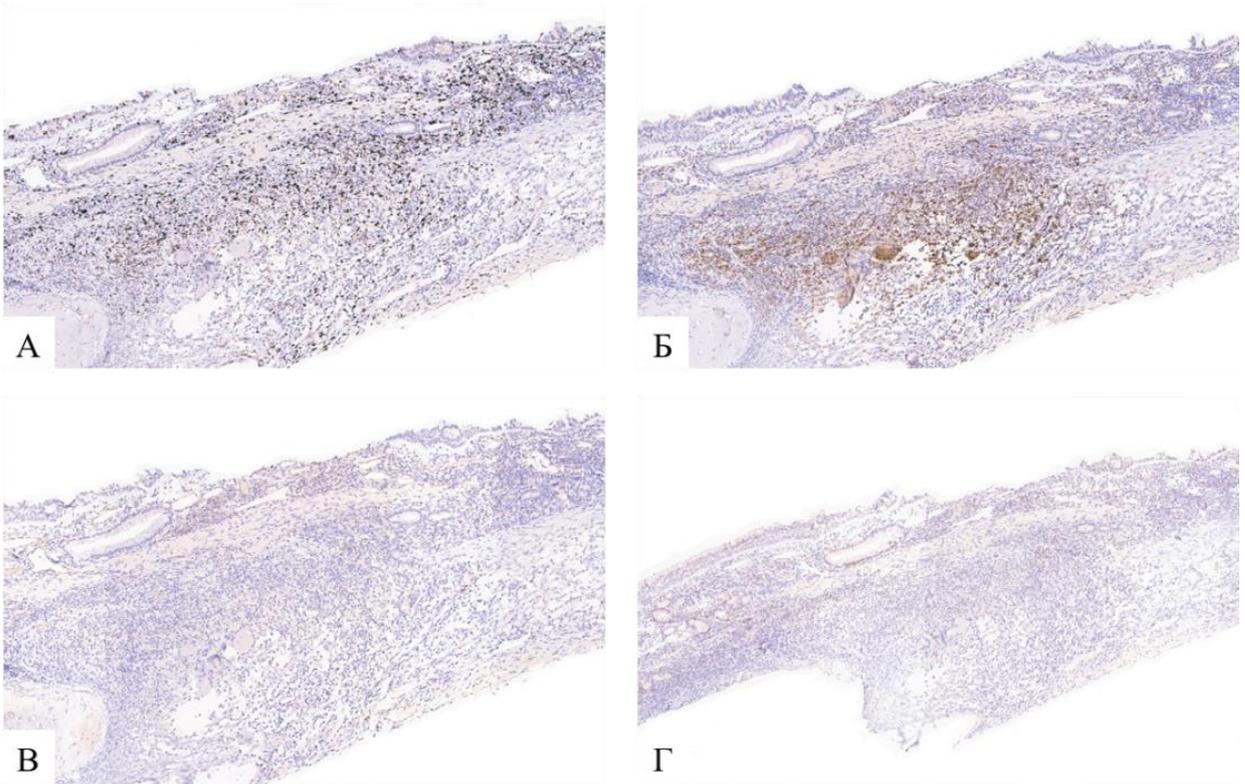


Примечание – Зона повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 100×; Б) Ув.100×

Рисунок 33 – Гистологическое исследование контрольной группы, 21-е сутки

При ИГХ исследование выявлены выраженные репаративные изменения, при этом большинство клеток демонстрировали признаки пролиферативной активности. Вокруг лигатуры отмечались выраженные лимфо-макрофагальные реакции, подтвержденные положительным окрашиванием на маркер CD68. Также была обнаружена развитая сосудистая сеть в подслизистом слое, что подтверждалось умеренной экспрессией маркера CD31 (Рисунок 34).

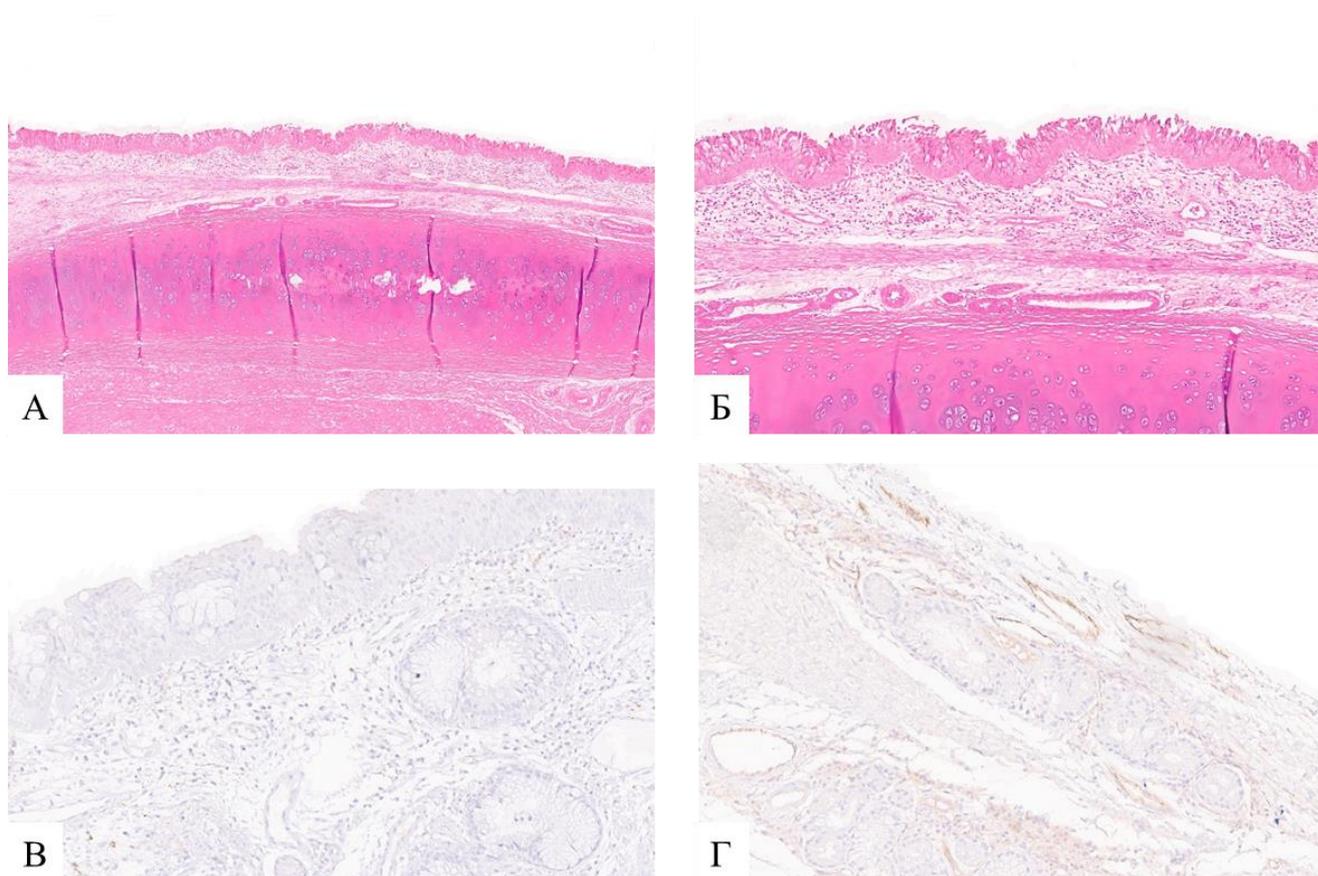
Сравнительный анализ морфологических изменений в двух группах выявил преобладание процессов регенерации в области лигатуры у животных опытной группы, в то время как в контрольной группе сохранялись признаки воспалительных реакций, а процессы восстановления имели тенденцию к фиброзированию.



Примечание – Зона повреждения А) Экспрессия Ki-67. Ув. 100×; Б) Экспрессия CD68. Ув. 100×; Экспрессия CD31. Ув. 100×; Г) Экспрессия CD 15: Ув.100×

Рисунок 34 – Иммуногистохимическая реакция в контрольной группе, 21-е сутки

Дальнейшее наблюдение за опытной группой проводилось в течение шести месяцев. По истечении этого срока морфологическая картина оставалась аналогичной таковой, полученной через три месяца: не выявлено признаков фиброзирования тканей, воспалительных изменений и полностью восстановлен дыхательный эпителий (см. Рисунок 35).



Примечание – Зона повреждения. Окраска гематоксилин и эозином. А) Ув. 50×; Б) Ув.100×. Иммуногистохимическая реакция; В) Экспрессия CD68. Ув. 100×; Г) Экспрессия CD31. Ув. 100×
Рисунок 35 – Гистологическое исследование опытной группы через 3 месяца

Таким образом, сравнительный морфологический анализ показал, что в зоне повреждения в опытной группе процессы восстановления запускаются раньше, при этом менее выраженные воспалительные изменения имеют раннюю тенденцию к стиханию. Дополнительным фактом, подтверждающим непосредственное влияние клеточного препарата на процессы, было обнаружение скопления клеток в зоне введения. Полученные результаты невозможно интерпретировать однозначно и понять, что делятся именно введенные клетки, так как в эксперименте были использованы немеченные клетки. Однако, наличие конгломерата активно пролиферирующих клеток свидетельствует об эффективности клеточного препарата, отсутствии признаков патологических реакций в виде образования гранулемы, нарушения микроциркуляции, что подтверждает его биологическую совместимость с тканью трахеи и бронха.

4.4. Сравнительный количественный иммуноферментный анализ различных медиаторов в сыворотке крови приматов

Дополнительно для характеристики системного ответа была изучена динамика различных биологически активных веществ в периферической крови животных в разные дни наблюдения (Таблица 13).

Таблица 13 – Динамика концентраций биологически активных веществ в опытной и контрольной группах (Me [Q1; Q3])

Группы	До операции (0 день)	3-й день после операции	7-й день после операции	14-й день после операции	21-й день после операции
PDGF, пг/мл					
Опытная группа	279,4 [138; 523,1]	304,2 [60,39; 1491]	448,5 [235,1; 2302]	279,4 [166,2; 1125]	384,3 [303,4; 465,2]
Контрольная группа	126 [46,63; 1161]	98,68 [50,9; 135,5]	204,1 [36,65; 2096]	162,2 [88,06; 236,3]	368,2
VEGF, пг/мл					
Опытная группа	6,6 [4,83; 20,75]	3,72 [2,04; 5,79]	7,50 [3,27; 9,62]	7,134 [3,19; 49,66]	4,27 [0,07; 8,47]
Контрольная группа	4,53 [2,37; 35,82]	7,43 [5,05; 20,51]	3,82 [2,47; 7,19]	1,48 [0,15; 2,82]	1,12
FGF, пг/мл					
Опытная группа	2560 [623,3; 2857]	2213 [1592; 3078]	2868 [1157; 2974]	3005 [1666; 3035]	2058 [1965; 2151]
Контрольная группа	1795 [680,4; 2138]	1891 [1604; 2273]	2120 [1446; 2717]	1631 [1508; 2482]	2563
IL-4, пг/мл					
Опытная группа	0,48 [0,22; 2,64]	1,175 [0,49; 5,43]	4,155 [0,52; 8,82]	5,036 [1,43; 8,636]	-
Контрольная группа	2,29	0,246 [0,09; 2,01]	0,57 [0,462; 2,69]	-	-
IL-6, пг/мл					
Опытная группа	0,459 [0,421; 0,994]	0,108 [0,092; 0,647]	0,338 [0,134; 0,784]	0,239 [0,15; 0,323]	1,128
Контрольная группа	0,299 [0,213; 1,97]	0,137 [0,089; 0,28]	0,315 [0,05; 0,64]	0,34 [0,312; 0,369]	-

Продолжение таблицы 13

Группы	До операции (0 день)	3-й день после операции	7-й день после операции	14-й день после операции	21-й день после операции
Опытная группа	0,459 [0,421; 0,994]	0,108 [0,092; 0,647]	0,338 [0,134; 0,784]	0,239 [0,15; 0,323]	1,128
Контрольная группа	0,299 [0,213; 1,97]	0,137 [0,089; 0,28]	0,315 [0,05; 0,64]	0,34 [0,312; 0,369]	-
IL-10, пг/мл					
Опытная группа	2,435 [1,496; 5,353]	1,954 [1,431; 3,939]	1,308 [0,47; 3,292]	2,577 [1,515; 2,962]	1,785 [1,646; 1,923]
Контрольная группа	2,939 [2,446; 7,008]	1,446 [0,531; 4,138]	0,992 [0,346; 2,558]	2,246 [0,646; 5,06]	6,766
MMP-2, нг/мл					
Опытная группа	128,2 [93,24; 190,6]	172,4 [117,6; 216]	157,5 [100,3; 217,6]	151,6 [81,63; 171,2]	145,4 [93,68; 335,9]
Контрольная группа	152,8 [111; 244,8]	118,4 [90,85; 144,3]	152,8 [78,17; 274,6]	283,3 [89,89; 297,7]	201,9
MMP-9 пг/мл					
Опытная группа	137,4 [46; 235,7]	20,53 [11,13; 61,69]	31,48 [13,44; 68,24]	37,55 [14,01; 163,3]	22,7 [20,76; 24,64]
Контрольная группа	61,55 [10,85; 271,7]	70,04 [28,3; 96,79]	27,44 [14,48; 126,2]	55,92 [30,46; 306,2]	179,5

В исследовании были охарактеризованы факторы роста: PDGF, VEGF, FGF. Известно, что указанные факторы играют ключевую роль в формировании микроокружения, поскольку они стимулируют пролиферацию клеток, привлечение стволовых клеток к очагу повреждения и индуцируют процессы неоангиогенеза.

При исследовании фактора роста PDGF были выявлены различия в группах, $p < 0,05$ (Рисунок 36). В опытной группе уровень PDGF в плазме увеличился на 3-и сутки до 304,2 пг/мл [60,39; 1491] с максимальным значением к 7-м суткам – 448,5 [235,1; 2302]. В контрольной группе концентрация PDGF увеличилась к 7-м суткам: 204,1 [36,65; 2096], достигнув максимального уровня к 21-м суткам – 368,2 пг/мл.

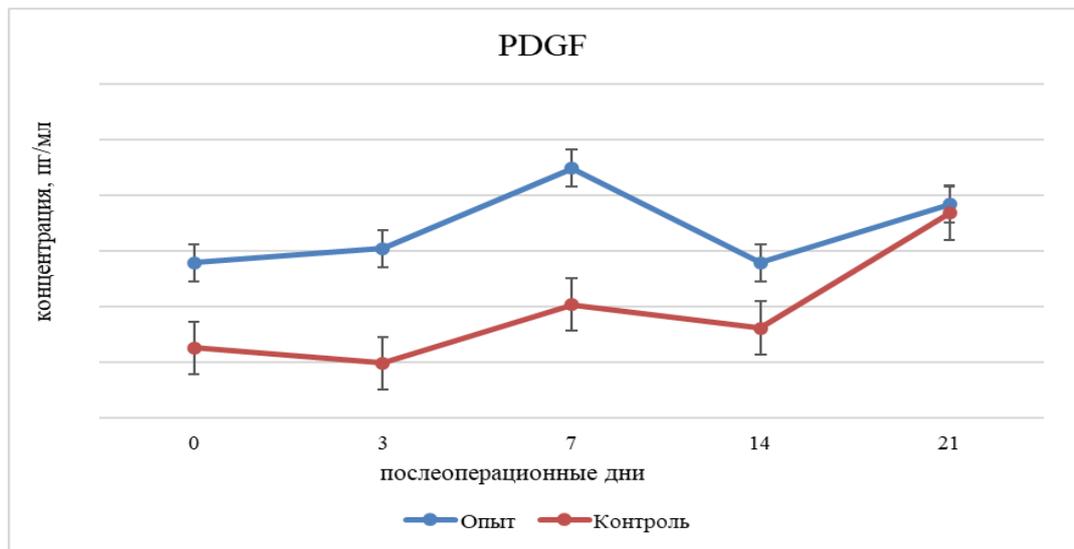


Рисунок 36 – Динамика изменений концентрации PDGF в разные дни наблюдения в обеих группах

В обеих группах наблюдались динамические изменения концентрации VEGF (Рисунок 37). В опытной группе на 3-и сутки было диагностировано снижение концентрации по сравнению с исходным уровнем, далее отмечалось постепенное повышение уровня VEGF с максимумом на 7-14-е сутки. В контрольной группе концентрация VEGF максимально повысилась на 3-и сутки и имела тенденцию к постепенному снижению (с 7,43 [5,05; 20,51] пг/мл на 3-и сутки до 1,12 пг/мл на 21-е сутки), $p > 0,05$.

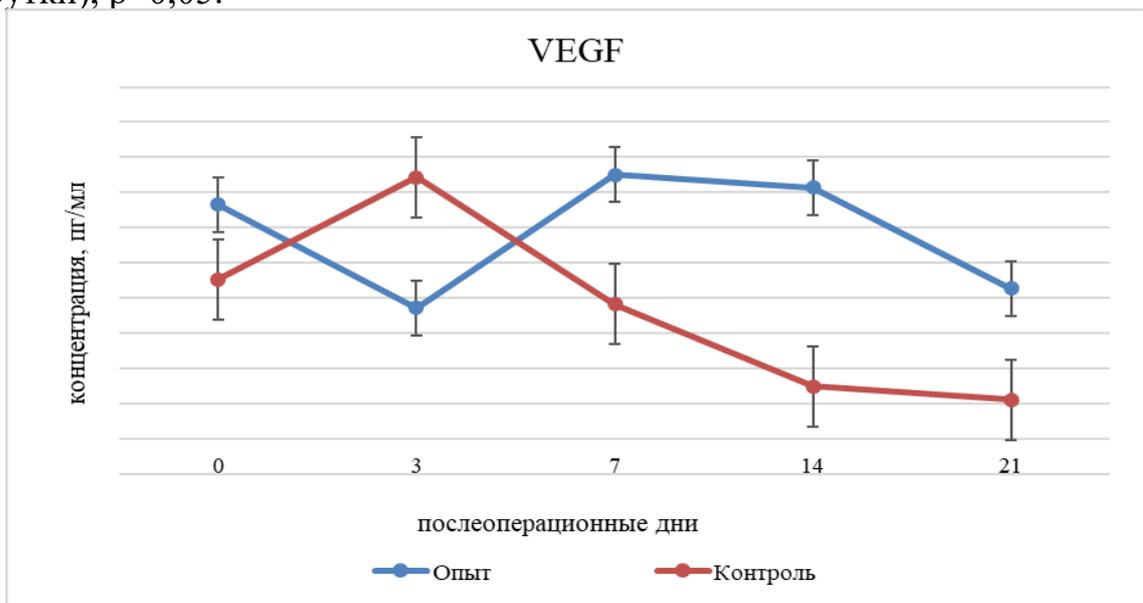


Рисунок 37 – Динамика изменений концентрации VEGF в разные дни наблюдения в обеих группах

Анализ уровня фактора роста фибробластов (FGF), который участвует в процессах формирования грануляционной ткани, показал отсутствие статистически значимой динамики этого показателя в обеих группах ($p>0,05$) (Рисунок 38).

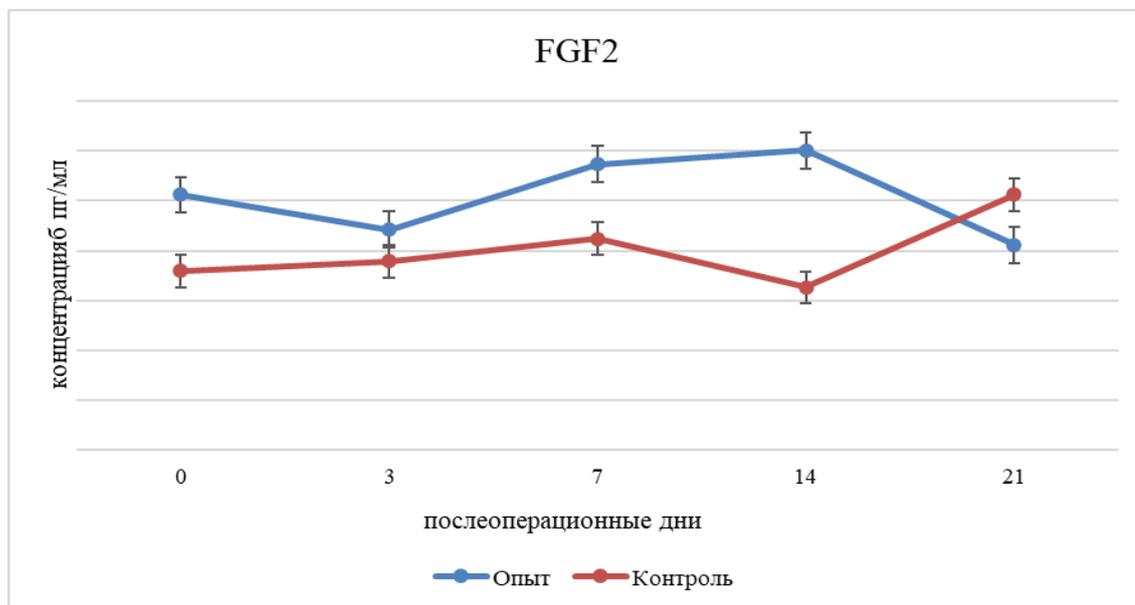


Рисунок 38 – Динамика изменений концентрации FGF в разные дни наблюдения в обеих группах

В опытной группе концентрация FGF увеличилась к 7-м суткам в 1,12 раз и оставалась повышенной на 14-е сутки – в 1,17 раз по сравнению с исходным уровнем. В контрольной группе наблюдалось 2 пика повышения: на 7-е сутки в 1,18 раз и на 21-е сутки – в 1,4 раза по сравнению с исходным уровнем, что доказывает более отсроченное начало регенеративных процессов.

Особый интерес вызывало изучение динамики противовоспалительных цитокинов, которые обладают иммуносупрессивным действием, а также потенцируют развитие рубцовой ткани.

Концентрация IL-4 в опытной группе имела положительную динамику увеличения с 0,48 [0,22; 2,64] до 5,036 [1,43; 8,636] пг/мл. В контрольной группе наблюдали противоположную картину – снижение IL-4 с 2,29 пг/мл до 0,57 [0,462; 2,69] пг/мл. Однако, статистически значимая разница между группами при этом не подтвердилась, $p>0,05$.

В опытной группе в первые дни после операции концентрация IL-6 снизилась, как и в контрольной группе, в 4,25 раз и в 2,2 раза, соответственно. В дальнейшем наблюдалось возрастание уровня IL-6 в обеих группах.

При проведении сравнительного анализа противовоспалительного цитокина IL-10 были выявлены следующие особенности. В обеих группах концентрация этого фактора на 3-и сутки снижалась по сравнению с исходным уровнем (на 20% в опытной группе и на 49% в контрольной группе). В опытной группе уровень IL-10 возрастал к 14-м суткам, а в контрольной группе к 21-м суткам.

В месте повреждения важная роль при заживлении принадлежит процессам тканевого ремоделирования. Матриксные металлопротеиназы нацелены на деградацию конкретных компонентов ВКМ, что является важным шагом на пути к его ремоделированию. При проведении сравнительного анализа динамики MMP-9 (Рисунок 39), было выявлено, что его концентрация снижается в раннем послеоперационном периоде в 6,7 раз, далее повышается с максимальным значением на 14-е сутки. В контрольной группе концентрация MMP-9 имеет постепенную тенденцию к повышению с максимальным значением на 21-е сутки: 179,5 пг/мл против 61,55 пг/мл до операции.

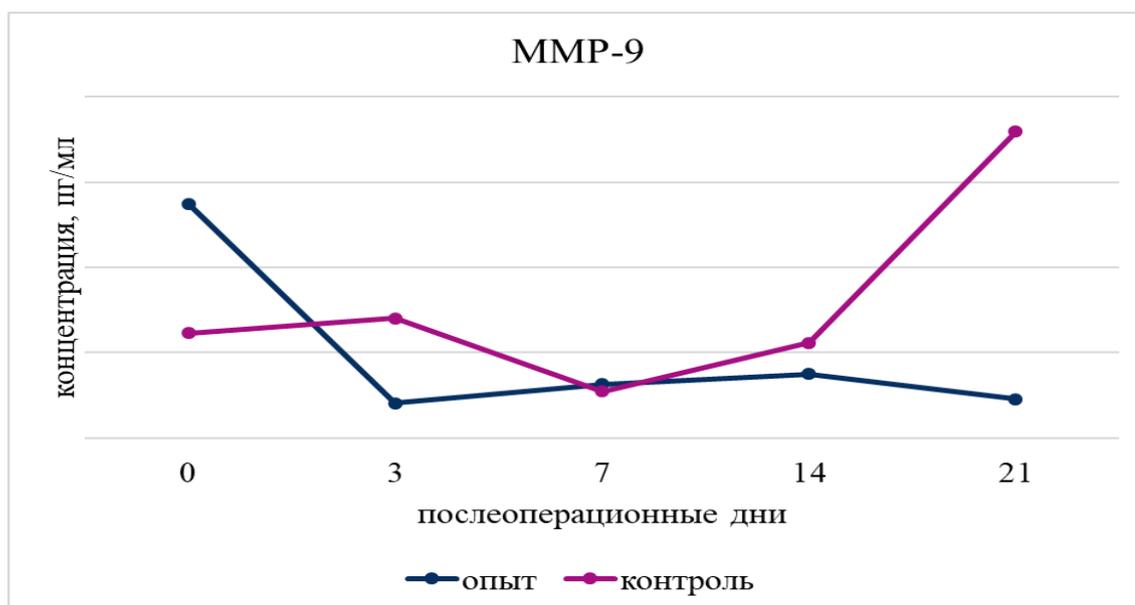


Рисунок 39 – Динамика изменений концентрации MMP-9 в разные дни наблюдения в обеих группах

При наблюдении в опытной группе динамика концентрации ММР-2 была незначительной (Рисунок 40). Максимальный уровень повышения этого медиатора был отмечен на 3-и сутки – 172,4 [117,6; 216] пг/мл.

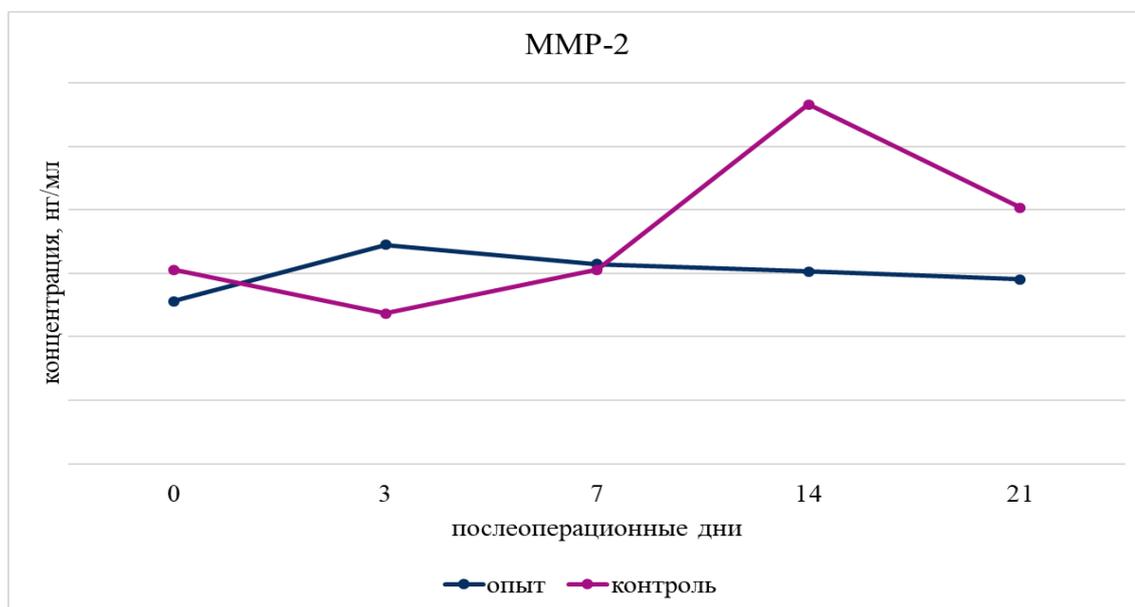


Рисунок 40 – Динамика изменений концентрации ММР-2 в разные дни наблюдения в обеих группах

В контрольной группе было отмечено падение уровня ММР-2 на 32,6% на 3-и сутки, с постепенным повышением в последующие дни наблюдения и максимум на 14-е сутки – 283,3 [89,89; 297,7] пг/мл.

Другой частью исследования стало изучение корреляционной связи между медиаторами. В опытной группе положительная связь была выявлена между VEGF и FGF и составляла $r=0,750$, $p<0,05$. Было отмечено, что между IL-6 и FGF существует сильная обратная корреляция, соответствующая $r=-0,948$, $p<0,05$. Сильная прямая связь была также выявлена между MMP-9 и VEGF. В контрольной группе достоверная положительная связь была выявлена между возрастанием IL-10 и MMP-9, $r=0,911$, $p<0,05$. Между IL-10 и IL-6 была обнаружена прямая корреляция, $p>0,05$. Анализируя полученные изменения концентрации медиаторов, можно заключить, что имеется их повышение в течение нескольких недель, начиная с 3-го дня, и длительное сохранение высокой концентрации VEGF, PDGF, FGF, IL-10. IL-6, что указывает на преобладание пролиферативных процессов, вызванных

применением клеточного препарата. Об активации процессов регенерации в основной группе свидетельствует снижение уровня металлопротеиназ при динамическом наблюдении. Все это происходит на фоне длительного сохранения повышенного уровня факторов роста и пролиферации. Согласно полученным результатам, уровень экспрессии металлопротеиназ является одним из определяющих факторов ремоделирования экстрацеллюлярного матрикса, и как следствие, может коррелировать с репаративными процессами без формирования рубцовых изменений.

Другая динамика наблюдалась в контрольной группе с введением физиологического раствора, где выявили более позднее повышение концентрации FGF, IL-10, раннее снижение концентрации VEGF, PDGF. Кроме этого, обнаружили более высокую концентрацию металлопротеиназ (вплоть до 21 суток), что препятствовало быстрому заживлению ткани, а именно синтезу коллагена, как основного компонента ВКМ. Об этом также свидетельствуют данные морфологического исследования, проведенные в аналогичное время после операции.

Резюме 4

Морфологические исследования и особенности лабораторных показателей при сравнении двух групп приматов свидетельствуют об ускорении регенеративных процессов в опытной группе по сравнению с контрольной. Кроме этого, применение клеточного препарата подавляет проявления воспалительной реакции, ускоряет ее переход к пролиферативной фазе. Это может быть опосредовано паракринным действием исследуемого препарата. Вышеописанные результаты морфологического исследования демонстрируют признаки введения клеток, которые сохраняются в ткани в течение 7 дней и более, что также подтверждено гистологически. Это означает, что эффект от клеточной терапии может быть связан непосредственно с жизнедеятельностью самих донорских клеток. Полученные результаты свидетельствуют о заживлении без формирования грубой рубцовой ткани и восстановлении дыхательного эпителия.

ГЛАВА 5

ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО ПРЕПАРАТА В КЛИНИКЕ И РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ

5.1. Общая характеристика

Как сообщали ранее в главе №1 «Обзор литературы», на протяжении последних лет осуществлялись попытки устранения бронхиальных свищей при использовании клеточных технологий. При этом применялись различные способы имплантации клеток, в том числе эндоскопические методы, техники внутрипросветной доставки клеток, а также имплантация во время оперативных вмешательств. Однако, как правило, в публикациях описываются лишь отдельные клинические случаи, что не позволяет сделать достоверные выводы об эффективности данного вида терапии [151, 180, 195].

После получения положительных результатов доклинических исследований на крупных животных (приматы), которые подтвердили безопасность и эффективность предлагаемого клеточного препарата, следующим этапом стало использование клеточного препарата в ограниченном клиническом исследовании. Метод клеточной терапии основывался на использовании аутологичного лизата тромбоцитов и аллогенной культуры фибробластов (патент № RU 2691323 C1) (Приложение Б).

За период 2017–2023 гг. было выполнено всего 4437 оперативных вмешательств с помощью открытой хирургии. Из них было проведено 3369 (76%) лобэктомий, 1068 (24%) пневмонэктомий. Всего бронхиальная фистула за указанный период была диагностирована у 91 человека, как в раннем, так и позднем послеоперационных периодах. При этом риск развития БС составил 2,05%.

Пациенты случайным образом были разделены на 2 группы: основная группа (с клеточной терапией) и контрольная группа (без клеточной терапии).

5.2. Анализ клинических результатов наблюдения основной группы

Всего в основную группу было включено 57 человек с диагностированным бронхиальным свищом, которым был выполнен курс эндоскопического введения клеточного препарата. Основные характеристики пациентов представлены в таблице 14. Большую часть участников составили мужчины – 51 человек (90%), в то время как женщины – 6 человек (10%). Средний возраст пациентов составлял $61,2 \pm 8,6$ лет, при этом минимальный возраст был 22 года, а максимальный — 78 лет. Около половины участников группы (47%; n=27) находились в возрастной категории от 61 до 70 лет.

Таблица 14 – Характеристика пациентов основной группы

Показатели	Количество человек, n	Количество человек, % (57 чел = 100%)
Возраст:		
– 21-30	1	1.7%
– 41-50	4	7%
– 51-60	18	31%
– 60-70	27	47%
>70	7	12.3%
Коморбидный фон:	46	81%
Основное заболевание		
– Онкология	52	91%
– Туберкулез	2	3,5%
– Прочие	3	5,5%
Стадия онкологии		
– I	9	
– II	18	
– III	24	
– IV	1	
Морфологический диагноз		
– плоскоклеточный	35	67%
– аденокарцинома	14	27%
– карциносаркома	2	4%
– нейроэндокринная	1	2%
Оперированная сторона		
– Правая	29	51%
– Левая	28	49%
Хирургическое вмешательство		

Продолжение таблицы 14

Показатели	Количество человек, n	Количество человек, % (57 чел = 100%)
– Пневмонэктомия	40	70%
– Лобэктомия	17	30%
Особенности в послеоперационном периоде	48	84,2%
– Остаточная плевральная полость	6	12%
– Первичная эмпиема с последующим БС	9	19%
– Пневмония	6	13%
– Лихорадка	4	8%
– Пневмоторакс	6	13%
– Ишемия культи	13	27%
– Нагноение послеоперационной раны	3	6%
– Другое	1	2%
Количество введений клеточного препарата, среднее	3,8	

Из 57 участников 81% человек (n=46) имели сопутствующие заболевания. Наиболее часто (52,6%, n=30) встречалась патология сердечно-сосудистой системы, которая включала в себя ишемическую болезнь сердца (ИБС), перенесенный инфаркт миокарда, перенесенное острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА), заболевания периферических сосудов. У 11 пациентов в анамнезе имелись заболевания желудка, у 7 – ожирение, у 2 – сахарный диабет. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) была диагностирована у 9 пациентов. В дооперационном периоде 1 человеку проводилась полихимиотерапия (ПХТ), 1 больному – дистанционная лучевая терапия (ДЛТ), еще у 3 пациентов наблюдалось кровохарканье.

Основная причина, по поводу которой было выполнено первичное оперативное вмешательство, относилась к раку легкого: 52 случая (91%). Остальные заболевания были представлены туберкулезом – 2 человека, гнойно-септические заболевания, такие как пневмония и абсцесс легкого – 3 человека.

Из 52 случаев онкологического поражения легких 16 человек (30,8%) имели опухоль T2, 23 человека (44,2%) – опухоль T3, и 9 человек (17,3%) – T4. При оценке региональных лимфатических узлов у 23 человек (44,2%) не было выявлено метастазов (N0). Также у 51 человека (98%) не было обнаружено отдаленных метастазов (M0).

В соответствие со стадиями онкологического процесса чаще всего была диагностирована стадия II и III: пациенты со стадией II – 18 человек (31,6%), 24 человека (42%) – стадия III. При морфологической верификации опухоли в большинстве случаев (61%, n=35) был диагностирован плоскоклеточный рак. Более подробный анализ с учетом классификации TNM (8-я редакция) и стадий представлен в таблице 15.

Таблица 15 – Распределение пациентов с раком легкого по стадиям опухолевого процесса

Стадия	Количество человек, n	Количество человек, % (52 чел = 100%)
Стадия Ia	2	4
Стадия Ib	7	13
Стадия IIb	18	34
Стадия IIIa	17	33
Стадия IIIb	5	10
Стадия IIIc	2	4
Стадия IV	1	2

Из всех пациентов у 29 человек (51%) оперативные вмешательства были произведены с правой стороны, у 28 (49%) – с левой, $p > 0,05$. Наиболее распространенным вариантом оперативного вмешательства вне зависимости от оперируемой стороны стала пневмонэктомия с лимфодиссекцией (51%, n=29) (Таблица 16). Всего было выполнено 40 пневмонэктомий (справа 16, слева 24), из них 3 пациентам была проведена реторакотомия, доудаление легкого. Эти

пациенты были выделены отдельно, так как им выполняли повторную операцию по поводу бронхиального свища в объеме завершающей пневмонэктомии. После этой операции развился новый свищ, с локализацией в главном бронхе, что и послужило основанием для включения пациентов в протокол исследования.

Таблица 16 – Виды оперативных вмешательств

Операция	Правая сторона, n	Левая сторона, n	Всего, n	Всего, %
Пневмонэктомия	1	1	2	3,5
Пневмонэктомия с лимфодиссекцией	13	16	29	51
Комбинированная пневмонэктомия с лимфодиссекцией	2	2	4	7
Комбинированная плевропневмонэктомия с лимфодиссекцией		1	1	1,7
Плевропневмонэктомия с лимфодиссекцией		1	1	1,7
Доудаление легкого по типу пневмонэктомии		3	3	5,3
Верхняя лобэктомия с лимфодиссекцией	2	3	5	8,8
Нижняя лобэктомия	2		2	3,5
Нижняя лобэктомия с лимфодиссекцией	7	1	8	14
Нижняя билобэктомия с лимфодиссекцией	2		2	3,5
Итого	29	28	57	100%

Вне зависимости от объема оперативного вмешательства статистически значимой разницы между оперированными сторонами выявлено не было, $p > 0,05$.

Для ушивания культи бронха наиболее часто применялся аппаратный шов – в 71% случаев, в 12 случаях использовался эндостеплер (22%), а ушивание бронха посредством УБ осуществлялось в 17 случаях (31%). Укрепление аппаратного шва ручным методом было выполнено в 10 случаях (18%). В отдельных случаях применялись отдельные швы на культю бронха – в 12 случаях (22%), а также сочетание обвивного шва на мембранозной части и отдельного шва на хрящевой ткани – в 4 случаях (7%). Укрепление культи бронха осуществлялось в 12 случаях (21%), при этом в качестве укрепляющего материала использовали лоскуты плевры, перикарда, диафрагмы или межреберной мышцы. Наиболее часто применялся лоскут перикарда – в 9 случаях (16%). В раннем послеоперационном периоде у 84% больных (n=48) были выявлены осложнения, среди которых ишемия культи встречалась в 27% случаев (n=13) и первичная эмпиема с последующим БС в 19% (n=9) случаев. Алгоритм диагностики БС был стандартным и соответствовал принятому в клинике – рентгенологические и эндоскопические методы исследования. БС был диагностирован на 8–14 сутки после операции в 35% (n=20) наблюдений, а в 32% (n=18) случаях БС был выявлен через 4–7 суток (Рисунок 41).

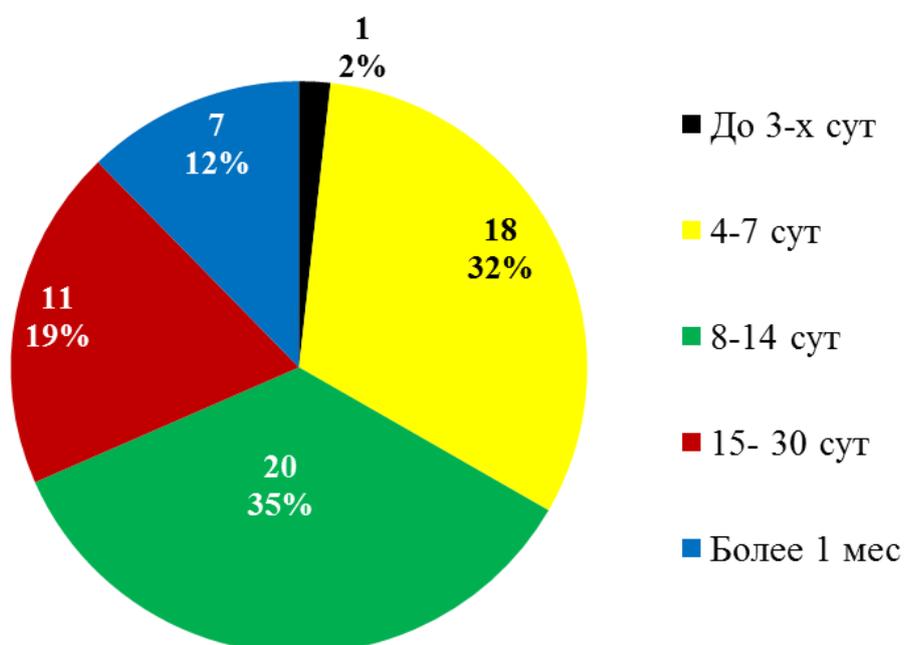


Рисунок 41 – Время выявления бронхиального свища

В зависимости от размеров дефекта, распределение пациентов по диаметру свища было следующим: у 20 (35%) пациентов диаметр дефекта составил 2–5 мм, у 18 (31,6%) человек диаметр свища был в диапазоне 5–10 мм, более 10 мм БС был диагностирован у 9 человек (17,3%). В 12 случаях (23%) из 52 были выявлены множественные дефекты. Наиболее часто БС был диагностирован в главных бронхах, в правом – 29,8% (n=17) случаев и слева – 42,1% (n=24) случая, соответственно.

Дренирование плевральной полости, как один из методов лечения БС, проводилось всем пациентам. Медикаментозная терапия включала антибиотикотерапию. Оперативное вмешательство с целью ушивания дефекта через торакотомный доступ выполнялось в 1 случае.

Клеточную терапию начинали сразу после выявления свища в течение 1–2 дней. Клеточный препарат согласно протоколу вводился максимально до 5 раз. В случаях, когда положительный результат клинически, в виде прекращения сброса воздуха, и/или по данным эндоскопического исследования наблюдался раньше, то клеточную терапию прекращали, среднее количество введений в группе составило 3,8 раз. Перед использованием клеточного препарата требовалась соответствующая подготовка области введения – культя бронха. Для этого через бронхоскоп удаляли некротизированные ткани, фибрин, свободнолежащие лигатуры или скрепки. Они препятствовали сближению краев дефекта и его эпителизации. Последующие ФБС с подслизистой инъекцией клеточного препарата проводили через каждые 2-3-е суток после начала терапии. Перед каждым новым введением осуществляли повторную санацию, некрэктомию.

Прекращение поступления воздуха происходило в сроки от 4 до 26 суток, в среднем 12 дней. Полное заживление дефекта бронха фиксировали через 4–43 суток после начала клеточной терапии. Заживление подтверждалось двумя способами: эндоскопическим исследованием с проведением водной пробы и кашлем.

У 15 (28%) пациентов закрытие БС произошло на 4–7 сутки после начала эндоскопического лечения с помощью клеточного препарата. В течение 2 недель

свищ зажил у 8 человек (15%), а через месяц отсутствовали признаки БС еще у 8 человек (15%). У 22 (42%) человек – через 1-2 месяца (Рисунок 42). После окончания курса клеточной терапии период наблюдения у всех пациентов протекал без развития новых осложнений.

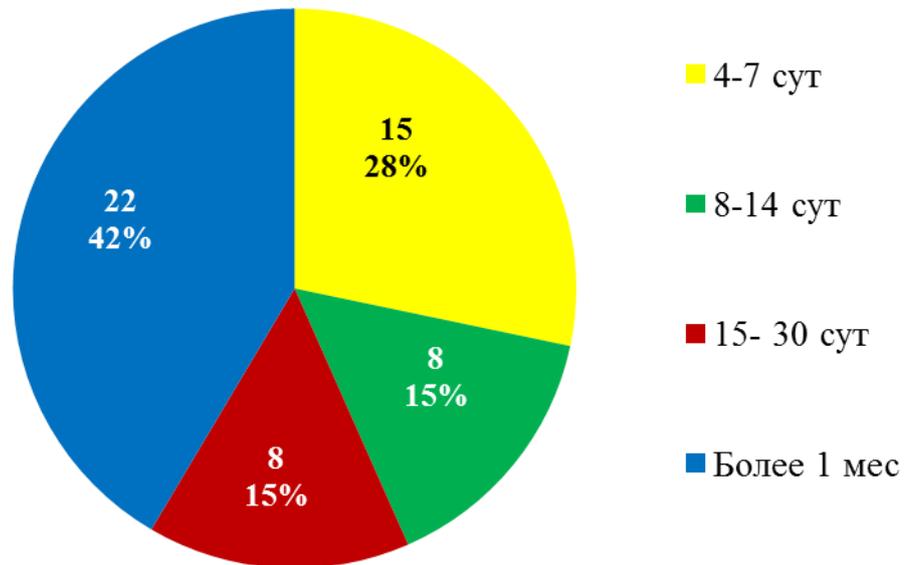


Рисунок 42 – Время заживления свища

Оценка эффективности применения клеточного продукта носила многокомпонентный характер и включала клинические проявления, инструментальные методы диагностики и исследование лабораторных показателей. При клинической оценке учитывали общее состояние пациентов, наличие гипертермии, выраженных симптомов интоксикации, снижающих активность больного, различные проявления аллергических реакций, а также сроки прекращения сброса воздуха через дефект трахеобронхиального дерева, сроки полного заживления свища (подтвержденного при ФБС). Обращали внимание на возможность проявления общих неблагоприятных симптомов из-за непосредственного введения самого клеточного препарата. При ФБС внимательно осматривали места инъекций для исключения появления местной неспецифической реакции. Оценивали динамику заживления дефектов в соответствующие сроки после применения препарата.

Таким образом, в основной группе свищ зажил у 53 (93%) пациентов из 57, у остальных 4 пациентов клеточная терапия не оказала должного эффекта. Все пациенты с незажившим свищом находились под наблюдением и им было показано длительное дренаженосительство.

Дополнительно учитывались сроки выписки пациентов из стационара, которым не требовалось стационарное лечение. Время пребывания в стационаре варьировало от 12 до 23 суток, что значительно меньше, чем при «традиционном» варианте лечения БС. Безрецидивный эффект оценивался спустя 60 дней после выписки из стационара, как клинически, так и с помощью инструментальных методов. Реканализации свища не наблюдалась ни в одном случае.

Далее приведены несколько клинических примеров использования клеточного препарата.

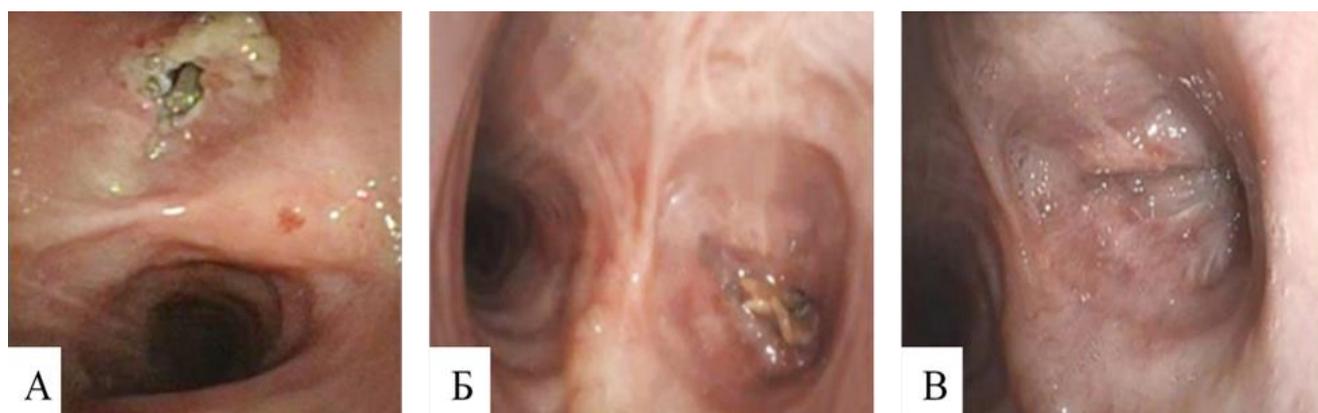
Клинический пример №1

Пациент, муж., 65 лет, в течение 6 месяцев отмечал нарастание одышки. Амбулаторно была выявлена пневмония. После курса антибиотикотерапии при дальнейшем обследовании выявлен рак желудка и центральный рак верхней доли левого легкого. При этом у пациента был отягощенный коморбидный фон: гипертоническая болезнь, ожирение, атеросклероз артерий нижних конечностей. Больному проводилось этапное лечение, сначала была выполнена резекция желудка. Через 3 месяца, как продолжение этапного лечения, верхняя лобэктомия слева с манжетной резекцией верхнедолевого бронха и формированием анастомоза левого главного бронха-нижнедолевого бронха, который был циркулярно укрыт мобилизованным лоскутом перикарда.

Однако через 13 дней по данным ФБС выявлена несостоятельность этого анастомоза. Было принято решение о повторном оперативном вмешательстве с доудалением левого легкого по типу пневмонэктомии.

Также проведена видеоторакоскопическая операция слева, санация плевральной полости. Через 10 дней после повторной операции выявлен дефект до 0,5 см в диаметре в культе главного бронха (Рисунок 43А). Постпневмонэктомическая полость была дренирована, и начат курс клеточной

терапии. На фоне лечения была отмечена положительная динамика состояния культи бронха. Через 2 недели после окончания клеточной терапии по данным ФБС стенки культи главного бронха рубцово изменены, в дне визуализировались металлические скрепки и фиксированный фрагмент бронхиального хряща (Рисунок 43Б.). В заднелатеральной части, у основания одной из скрепок был дефект, частично прикрытый грануляциями, до 0,4 см в диаметре. Однако последующее наблюдение не выявило дефекта. Контроль через 5 месяцев показал отсутствие дефекта и слепо заканчивающийся карман (Рисунок 43В).

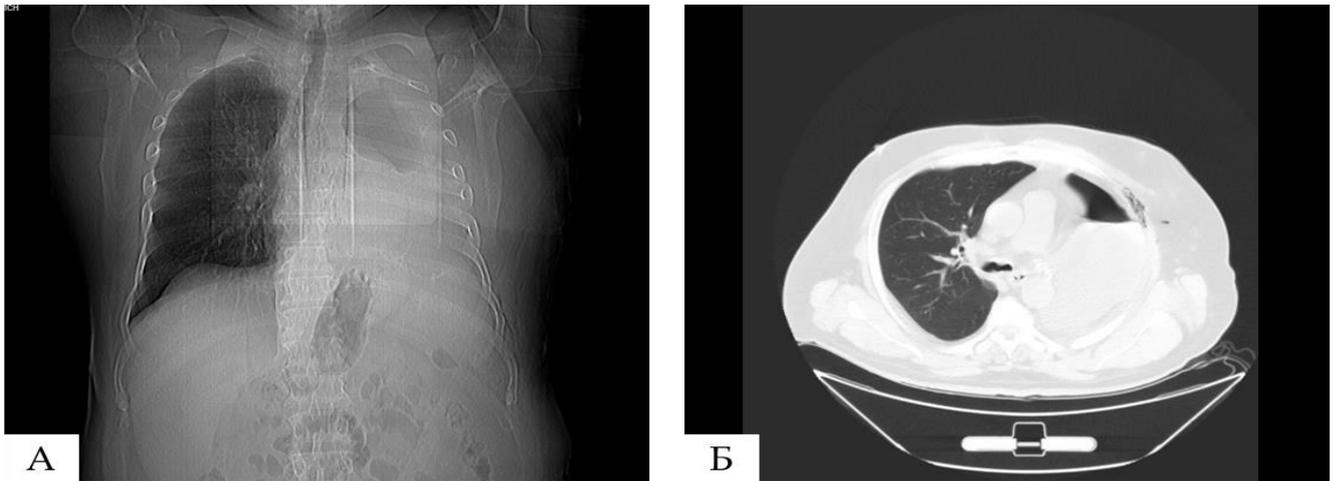


Примечание – А) свищ через 10 дней после пневмонэктомии; Б) после терапии через 1 месяц; В) после терапии через 5 месяцев

Рисунок 43 – ФБС. Эндоскопическая картина бронха в разные сроки наблюдения

Клинический пример №2

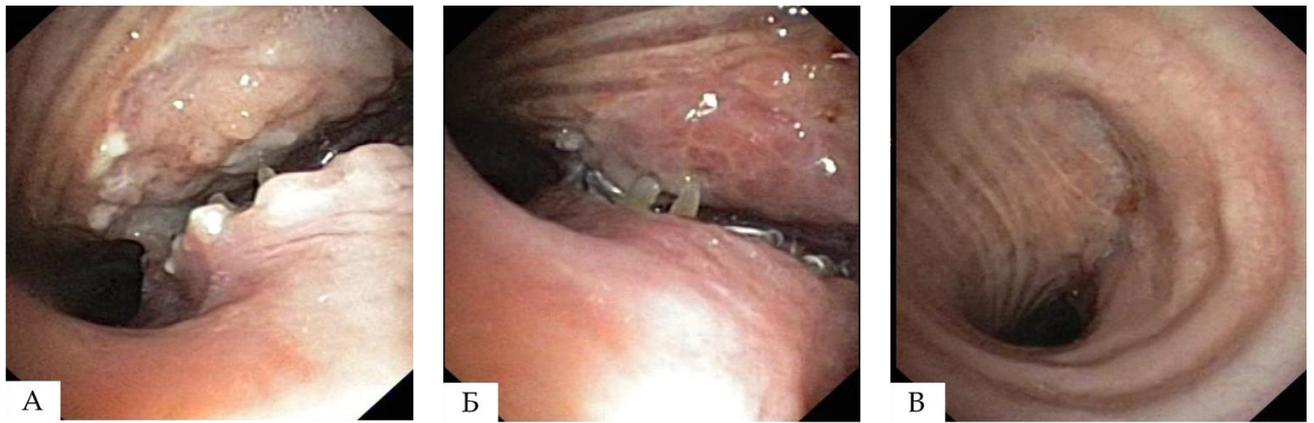
Пациент, муж., 62 года, находился на стационарном лечении по поводу центрального рака левого легкого pT3N0M0, IIb стадии, плоскоклеточный, 2 клиническая группа. В плановом порядке произвели левостороннюю пневмонэктомию с лимфодиссекцией. Дренаж из плевральной полости удалили на следующий день, и была сформирована пункционно остаточная постпневмонэктомическая полость. Через 7 дней после операции появился приступ кашля с откашливанием большого количества серозного отделяемого. Клинически и рентгенологически (Рисунок 44) диагностировали несостоятельность культи главного бронха и эмпиему плевру. Остаточная плевральная полость слева больших размеров, органы средостения расположены по средней линии.



Примечание – А) рентгенограмма грудной клетки; Б) КТ-картина легких (аксиальный срез)

Рисунок 44 – Рентгенологическая картина несостоятельности культи бронха и эмпиемы плевры после левосторонней пневмонэктомии

При ФБС выявлена полная несостоятельность анастомоза культи бронха с расхождением краев трахеи на уровне правого трахеобронхиального угла, в дефект вовлечена медиальная стенка правого главного бронха до устья верхнедолевого (Рисунок 45А). Культи ГБ была представлена обширным дефектом с захватом карины и медиальной стенки правого главного бронха до уровня верхнедолевого бронха справа, дефект открывался в постпневмонэктомическую полость, покрытую серым фибрином. Пациенту была выполнена видеоторакоскопическая санация, дренирование постпневмонэктомической полости. В этот же день, в момент диагностики несостоятельности швов, после получения информированного согласия, пациенту начали клеточную терапию по имеющемуся протоколу (5-кратное введение клеточного препарата с интервалом в 2–3 дня). При каждом эндоскопическом внутрипросветном вмешательстве производили обработку краёв дефекта – удаляли некротизированные ткани, фибрин, свободнолежащие лигатуры. Удаленные с краев ткани посылали для гистологического исследования. Через 10 дней диагностировали положительную динамику в виде уменьшения размеров дефекта (Рисунок 45Б). Регенерация продолжалась и через 1 месяц после начала терапии, дефект бронха и трахеи полностью закрылся (Рисунок 45В). Дренаж из плевральной полости удален на 30-ые сутки.



Примечание – А) полная несостоятельность культи левого главного бронха с расхождением краев трахеи на уровне правого трахеобронхиального угла; Б) 10-е сутки после начала клеточной терапии; В) через 1 месяц после первого введения клеточного препарата
Рисунок 45 – ФБС. Эндоскопическая картина бронха в разные сроки наблюдения

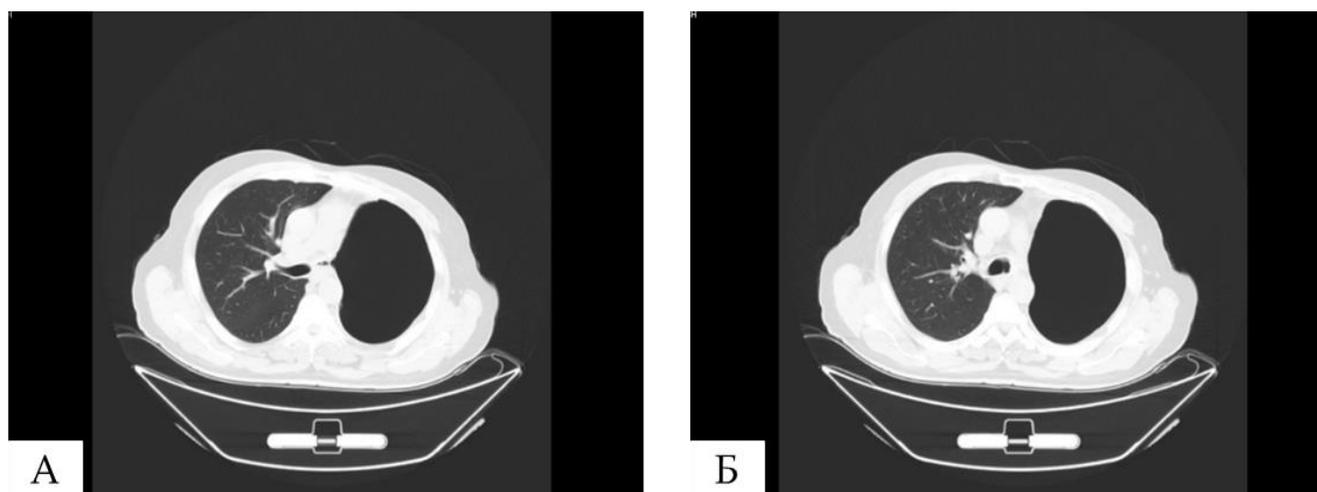
При гистологическом исследовании участков бронхов выявили гранулирующее воспаление стенки бронха и метаплазированный многослойный плоский эпителий. Сразу после заживления свища (приблизительно через 1,5 месяца после операции) пациент получил 3 курса ПХТ. Динамическое наблюдение с соответствующим инструментальным обследованием еще через 9 месяцев не выявило рецидива БС и прогрессирования онкологического процесса.

Таким образом, приведенное клиническое наблюдение свидетельствует о том, что даже столь обширные послеоперационные дефекты трахеи, обоих бронхов, включая и культю левого главного бронха, возможно устранить при применении предлагаемого клеточного продукта.

Клинический пример №3

Больной А., 56 лет, был прооперирован в отделении торакальной хирургии по поводу центрального плоскоклеточного рака нижней доли левого легкого pT3N1M0, IIIA ст., PD-L1 42%, 2 кл.гр. Ему произвели стандартную левостороннюю пневмонэктомию с систематической лимфодиссекцией. Послеоперационный период протекал без осложнений и пациента выписали на 16 день после операции. Через 1,5 месяца после операции больному начали адъювантную ПХТ (Pt + Nivo). Однако лечение прервали после 1-го курса (на 50-й

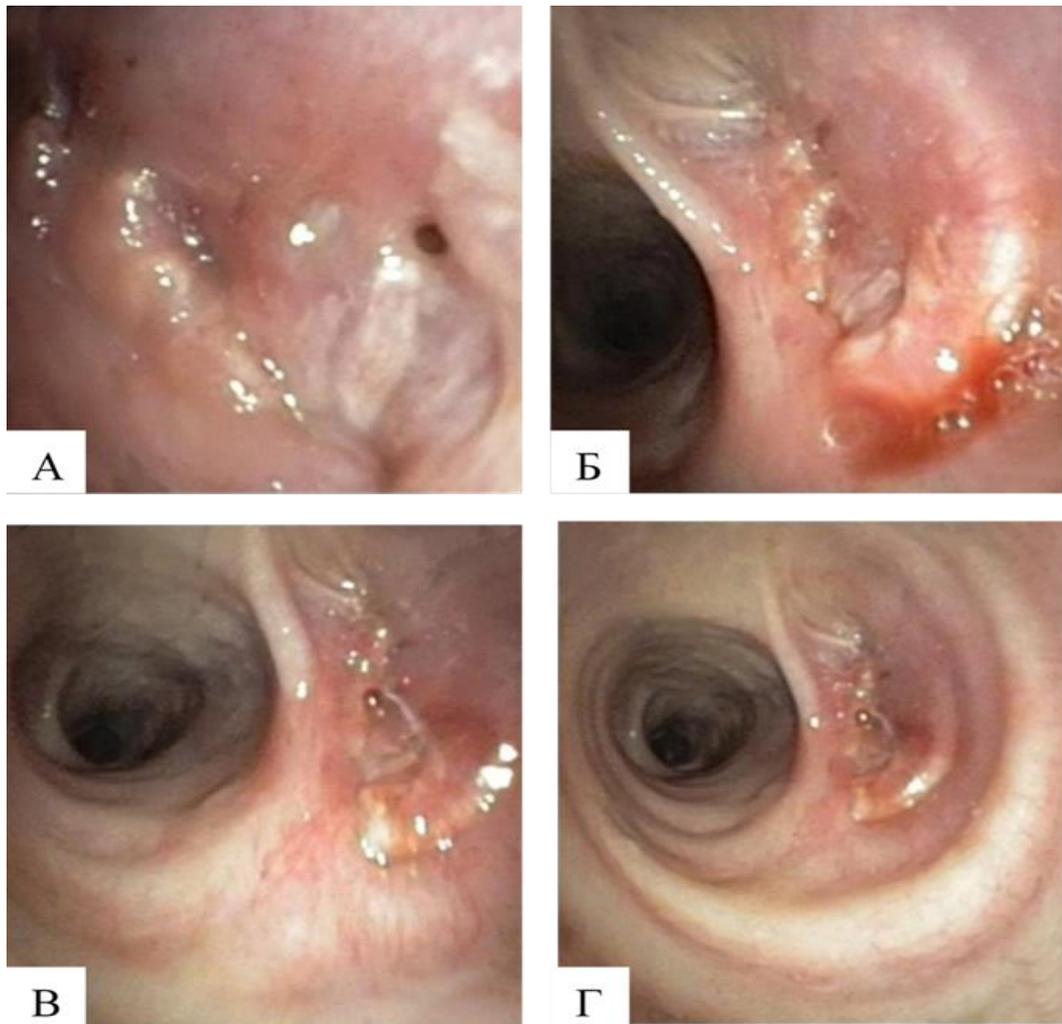
день после операции) из-за появившейся клиники несостоятельности культи главного бронха. Экстренно было выполнено дренирование плевральной полости. При этом эвакуировали мутную серозную жидкость. По дренажу при форсированном дыхании и кашле поступал воздух. При КТ органов грудной клетки убедительных данных о наличии воспалительного процесса в единственном легком не было (Рисунок 46). Остаточная плевральная полость слева больших размеров, органы средостения расположены по средней линии.



Примечание – А, Б) КТ-картина легких после левосторонней пневмонэктомии

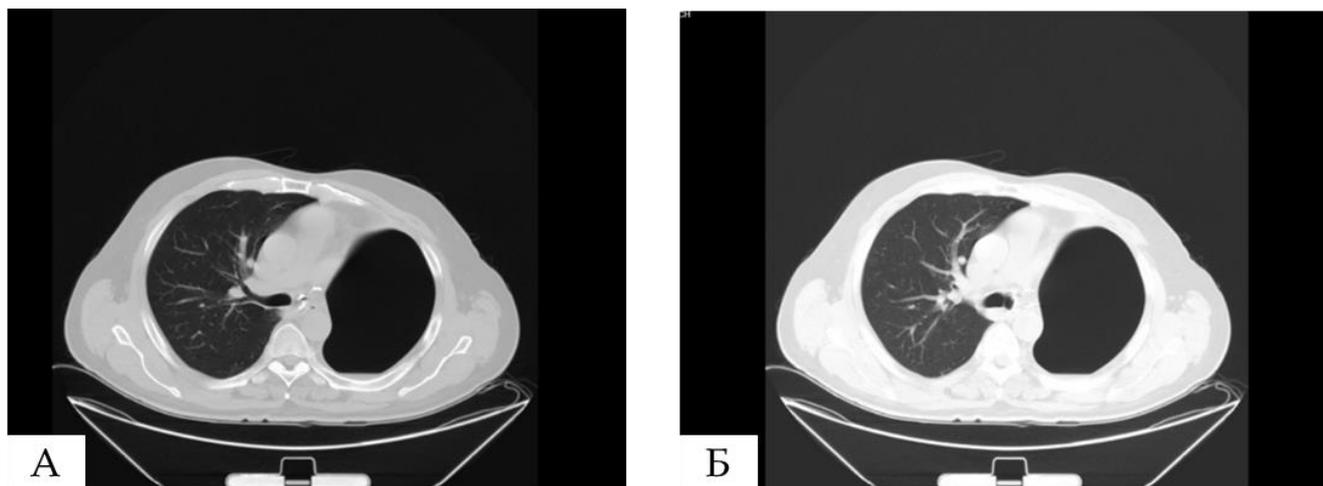
Рисунок 46 – КТ органов грудной клетки (аксиальный срез)

Диагноз несостоятельности подтвердили при ФБС. Размеры свища в культе левого главного бронха составляли 0,2 см × 0,5 см (Рисунки 47А, Б). В ближайшие сутки произвели санационную видеоторакоскопию. После получения информированного согласия пациента включили в протокол исследования и начат курс клеточной терапии. При ФБС края свища очистили от фибрина и некротических масс. Введение суспензии аллогенных фибробластов и лизата тромбоцитов производили 3 раза с интервалом 2 суток.



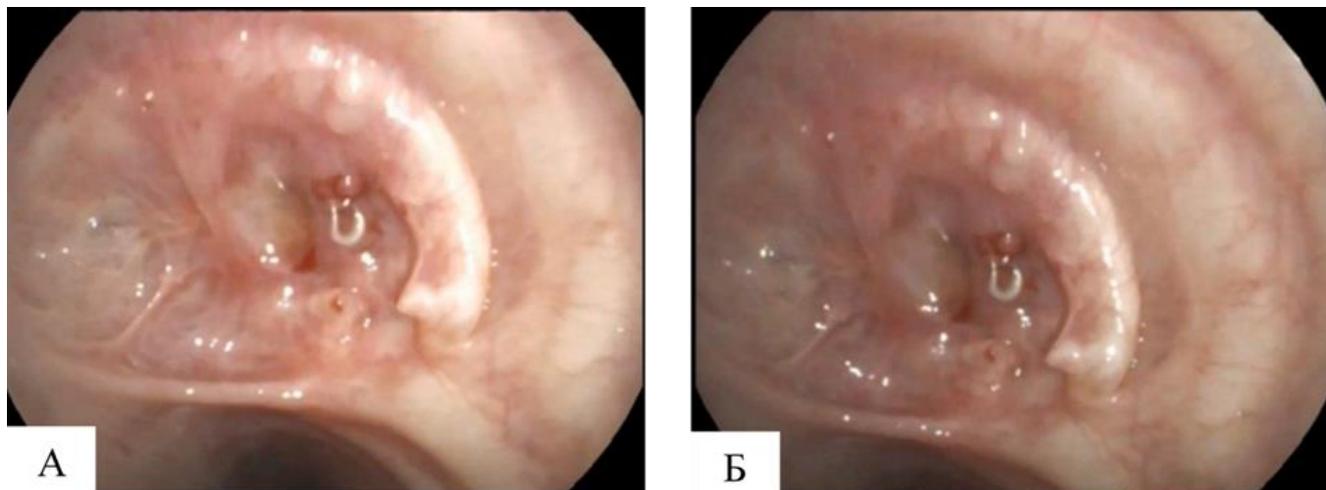
Примечание – А,Б) до начала терапии, визуализирован дефект в культе левого главного бронха (в проекции 3 часов) размером 2×5 мм; В,Г) на фоне терапии через 4 дня
 Рисунок 47 – ФБС. Эндоскопическая картина бронха в разные сроки наблюдения

Закрытие БС диагностировали на 9-ые сутки применения клеточного препарата. Санитария полости эмпиемы удалось достичь к 30-м суткам. После получения отрицательных посевов плеврального содержимого удалялся дренаж из грудной клетки. По данным КТ отсутствовали признаки свища и эмпиемы плевры (Рисунок 48).



Примечание – А, Б) КТ-картина легких через 1 месяц
 Рисунок 48 – КТ органов грудной клетки (аксиальный срез)

В дальнейшем пациенту было продолжено проведение ПХТ. Всего он получил 6 курсов лекарственного противоопухолевого лечения в течение 6 месяцев. При наблюдении через 7 месяцев по данным ФБС не было выявлено прогрессирования опухолевого процесса или рецидива БС (Рисунок 49).



Примечание – А,Б) отсутствие признаков БС, гладкая рубцовая ткань
 Рисунок 49 – ФБС. Эндоскопическая картина бронха через 7 месяцев

Таким образом, ПХТ считается фактором риска несостоятельности культи бронха. При этом свищ может манифестировать на фоне лекарственного противоопухолевого лечения в отдаленном периоде, спустя несколько месяцев

после операции. Однако, она не является противопоказанием к клеточной терапии БС, которая позволяет устранить свищ в короткие сроки и затем продолжить лекарственную противоопухолевую терапию.

5.3 Анализ клинических результатов наблюдения контрольной группы без применения клеточного препарата

В группу контроля было включено 34 человека (Таблица 17). В контрольной группе преобладали мужчины – 97% (33 чел.), женщины составили лишь 3% (1 чел.). Почти половина (48,3%; n=27) участников этой группы находилась в возрасте от 61 до 70 лет. Минимальный возраст больного составил 25 лет, максимальный – 82 года.

Таблица 17 – Характеристика пациентов контрольной группы

Показатели	Количество человек, n	Количество человек, % (34 чел. = 100%)
Возраст:		
21-30	1	3
41-50	2	6,5
51-60	10	32,3
60-70	15	48,3
>70	6	19,4
Коморбидный фон:	23	68
Основное заболевание		
Онкология	32	94
Туберкулез	1	2,9
Прочие	1	2,9
Стадия онкологии		32 чел = 100%
I	10	31
II	11	34
III	6	19
IV	5	16

Продолжение таблицы 17

Показатели	Количество человек, n	Количество человек, % (34 чел. = 100%)
Морфологический диагноз		32 чел = 100%
плоскоклеточный	20	63
аденокарцинома	10	31
мелкоклеточный	1	3
мукоэпидермоидная карцинома	1	3
Оперированная сторона		
правая	18	53
левая	16	47
Хирургическое вмешательство		
пневмонэктомия	14	41
лобэктомия	20	59
Особенности в послеоперационном периоде		(20 чел = 100%)
остаточная плевральная полость	2	10
первичная эмпиема с последующим БС	1	5
пневмония	6	30
гемоторакс	2	10
ишемия культи	2	10
нагноение п/о раны	6	30
несостоятельность пищевода	1	5

Среди заболеваний, по поводу которых была проведена операция, повлекшая за собой развитие БС, 94% (32 случая) приходилось на рак легкого. При этом, 18 человек (52,9%) имели опухоль от 31 до 50 мм в диаметре в наибольшем измерении или опухоль в сочетании с вовлечением главного бронха (T2). При оценке региональных лимфатических узлов у 21 человека (61,8%) не было выявлено метастазов (N0). У 30 человек (88,2%) также не было отдаленных метастазов (M0).

У пациентов начальные стадии рака коррелировали с более частым развитием бронхиального свища. При распределении по стадиям I стадия была выявлена у 10 человек (31%), 11 пациентов (34%) имели стадию II, 6 человек (19%) – стадию III, а IV стадия была зарегистрирована у 5 человек (16%). При

морфологической верификации опухоли в большинстве случаев (63%, n=20) был диагностирован плоскоклеточный рак (Таблица 17).

У 23 пациентов (68%) был отягощенный коморбидный фон. Среди сопутствующих заболеваний наиболее часто (47%, n=16) встречалась патология сердечно-сосудистой системы (ИБС, атеросклероз, ИМ, ОНМК, ТЭЛА). В дооперационном периоде 1 человеку была проведена ПХТ, еще у 1 пациента наблюдалось кровохарканье.

Из 34 пациентов у 18 человек (53%) оперативные вмешательства были произведены с правой стороны, у 16 (47%) человек – с левой стороны, а наиболее распространенными вариантами оперативных вмешательств стали пневмонэктомия с лимфодиссекцией (38,2%, n=13) и верхняя лобэктомия с лимфодиссекцией (29,4%, n=10) (Таблица 18).

Таблица 18 – Спектр оперативных вмешательств в контрольной группе

Операция	Правая сторона	Левая сторона	Всего, n	Всего, %
Пневмонэктомия расширенная с резекцией перикарда, левого предсердия	1		1	2,9
Пневмонэктомия с лимфодиссекцией	6	7	13	38,2
Верхняя лобэктомия		1	1	2,9
Верхняя лобэктомия с лимфодиссекцией	3	7	10	29,4
Нижняя лобэктомия с сегментэктомией	1		1	2,9
Нижняя лобэктомия с лимфодиссекцией	4	1	5	2,9
Нижняя билобэктомия с лимфодиссекцией	3		3	8,8
Итого	18	16	34	

Для ушивания культи бронха чаще всего использовался аппаратный шов (71%), в частности, эндостеплер (42%). В раннем послеоперационном периоде у 58,8% больных (20 чел.) были выявлены осложнения, среди которых пневмония встречалась в 30% случаев (n=6) и нагноение послеоперационной раны – в 30% (n=6).

В 41% (n=14) наблюдений БС был диагностирован на 8–14 сутки после операции, а в 23,5% (n=8) – через 15–30 суток (Рисунок 50).

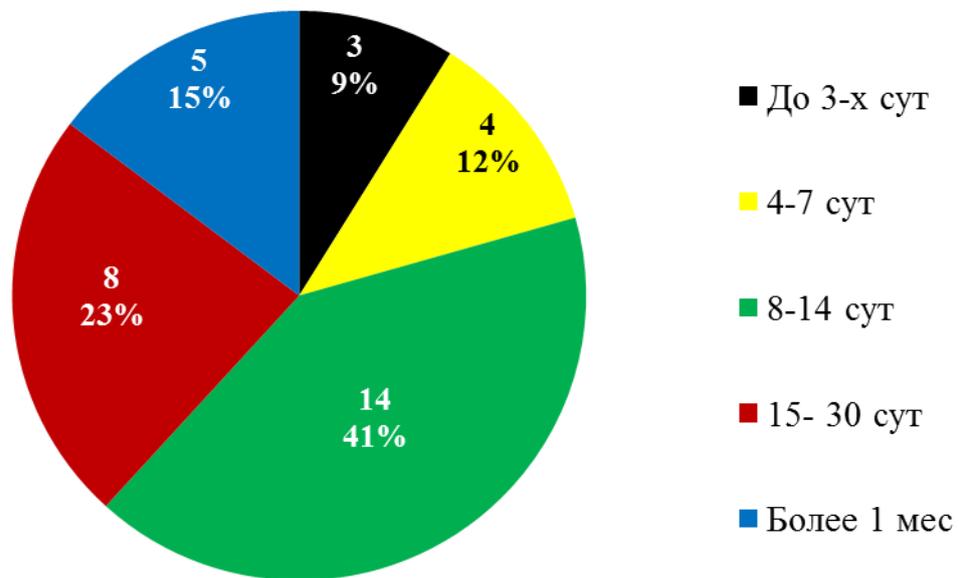


Рисунок 50 – Время манифестации бронхиальных свищей в контрольной группе

У 19 (52,7%) пациентов диаметр дефекта превышал 10 мм. Правый и левый главные бронхи оказались наиболее частым местом образования свища, с долей 29,4% (n=10) и 23,6% (n=8), соответственно.

Дренирование плевральной полости, как один из методов лечения БС, проводилось всем пациентам. Еще 12 пациентам была выполнена повторная операция для устранения БС. В большинстве случаев (10 человек) у повторно прооперированных операцией выбора стало доудаление легкого по типу пневмонэктомии.

В течение первых трёх суток после выявления БС были повторно оперированы 9 пациентов. В последующем БС рецидивировал у 2 пациентов, с

последующим 1 летальным исходом. В 3 случаях закрытие БС произошло на 4–7 сутки, все пациенты также были повторно оперированы. У 3 больных положительная динамика БС была отмечена на 8–14 сутки, без оперативного вмешательства. В период от 15 до 30 дней у 2 человек было закрытие свища, у 1 из них закрытие было хирургическим способом. И наконец, у 2 человек – спустя 2-3 месяца. Таким образом, из 34 пациентов закрытие свища было зарегистрировано у 17 человек (50%), в том числе устранение хирургическим способом у 10 пациентов (59% из 17). Из 17 человек у 1 пациента после повторного оперативного вмешательства в послеоперационном периоде развился инсульт, что послужило причиной летального исхода, еще 1 пациент умер вследствие рецидива БС, деструктивной пневмонии, сепсиса с полиорганной недостаточностью. Из 34 пациентов в 17 случаях БС сохранялся, в том числе 2 рецидива, при этом у 10 пациентов были осложнения в виде сепсиса с последующим летальным исходом в течение 3 месяцев. Остальные 7 человек были выписаны со свищами на длительном дренаженосительстве.

В течение 6 месяцев после операции прогрессирование опухолевого процесса отмечалось у 3 человек (8,8%). Через 6 месяцев и более прогресс был отмечен у 5 пациентов (14,7%), у 20,6% (n=7) пациентов данные о прогрессировании онкопроцесса отсутствовали. В 5 случаях судьба пациентов не известна, таким образом они выбыли из наблюдения. Отмечалось 12 летальных исходов (35,3%), среди которых 2 случая после хирургического устранения БС.

5.4. Сравнительный клинический анализ ранних и отдаленных результатов лечения бронхиальных свищей основной и контрольной групп

С 2017 по 2023гг. был проведен анализ историй болезни пациентов с диагностированными БС вне зависимости от способа лечения.

Всего в исследование было включено 91 человек, из них – 57 с курсом эндоскопического введения клеточного препарата (основная группа). В группу контроля было включено 34 человека.

Средний возраст пациентов обеих групп составил $61,5 \pm 9,5$ лет. В обеих группах пациенты по полу и возрасту были сопоставимы, $p > 0,05$.

При сравнении пациентов (Таблица 19) по распределению основных характеристик между группами таких как диагноз, объем оперативного вмешательства, оперированная сторона и время возникновения свища статистически не отличались друг от друга, $p > 0,05$.

Таблица 19 – Сравнительная характеристика основной и контрольной групп

Показатели	Количество человек в основной группе, n	Количество человек в контрольной группе, n	<i>p</i>
Возраст	$61,2 \pm 8,6$	$61,9 \pm 11$	$>0,05$
Пол			
мужчины	51	33	$>0,05$
женщины	6	1	$>0,05$
Коморбидный фон:			$>0,05$
Да	46 (80,7%)	23 (67,6%)	
Нет	11 (19,3%)	11 (32,4%)	
Основное заболевание			$>0,05$
Онкология	52 (91%)	32 (94%)	
Туберкулез	2 (3,5%)	1 (2,9%)	
Прочие	3 (5,5%)	1 (2,9%)	
Оперированная сторона			$>0,05$
Правая	29 (51%)	18 (53%)	
Левая	28 (49%)	16 (47%)	
Хирургическое вмешательство			$<0,05$
Пневмонэктомия	40 (70%)	14 (41%)	
Лобэктомия	17 (30%)	20 (59%)	
Шовный материал			$>0,05$
Отдельные швы, рассасывающийся монофиламентный	12	6	
Сочетание обвивного на мембранозную часть и отдельного на хрящевую	4	3	
Аппаратный шов, эндостеплер	12	13	
Аппаратный шов с использованием аппарата типа «УБ»	17	4	
Аппаратный шов с ручным укреплением швов	10	5	

Продолжение таблицы 19

Показатели	Количество человек в основной группе, n	Количество человек в контрольной группе, n	<i>p</i>
Время манифестация БС			>0,05
До 3-х сут	1	3	
4-7 сут	18	4	
8-14 сут	20	14	
15- 30 сут	11	8	
1-2 мес	4	3	
2-3 мес	2	1	
Более 3-х мес	1	1	
Локализация			>0,05
Правый главный бронх	17	10	
Правый верхнедолевой бронх	2	1	
Правый нижнедолевой бронх	7	2	
Правый промежуточный бронх	3	4	
Правый бронх базальных сегментов		1	
Левый главный бронх	24	8	
Левый верхнедолевой бронх	3	6	
Левый нижнедолевой бронх		1	
Левый бронх базальных сегментов	1	1	
Операции для устранения БС	1	10	<0,0001
Эффективность	53	17	<0,0001
Без эффекта	4	17	<0,0001
Летальный исход	0	12	<0,0001

В раннем послеоперационном периоде в обеих группах были выявлены осложнения, спектр их был схож, однако, было отмечено их влияние на тяжесть состояния, $p < 0,05$. В основной группе в раннем послеоперационном периоде у 84% больных (48 чел.) были выявлены осложнения, среди которых ишемия культи – в 27% случаев ($n=13$) и первичная эмпиема с последующим БС – в 19% ($n=9$). При этом, в контрольной группе послеоперационные осложнения были обнаружены у 58,8% больных (20 чел.), среди которых пневмония встречалась в 30% случаев ($n=6$) и нагноение послеоперационной раны – в 30% ($n=6$).

По времени возникновения свища группы были сопоставимы. Наиболее часто БС в обеих группах был диагностирован с 4-е по 30-е сутки.

В зависимости от стороны возникновения БС не было выявлено разницы между группами. По данным литературы [12], БС наиболее часто образуются после

правосторонних операций. По результатам нашего исследования этой зависимости не было обнаружено ни в одной из групп, $p > 0,05$. Возникновения БС как справа, так и слева наблюдались одинаково часто.

Сравнительный анализ групп по размерам БС показал статистически достоверную разницу. Так в контрольной группе 19 пациентов (56%) имели размер свища более 10 мм, в то время как в основной группе пациентов с размером свища более 10 мм было 9 человек, а основная часть имели размеры от 2 мм до 10 мм – 38 человек, $p < 0,001$.

Анализ результатов лечения БС и течения заболевания показали существенную разницу между двумя группами (Таблица 20). В основной группе оперативное вмешательство с целью ушивания БС через торакотомный доступ было выполнено в 1 случае. В контрольной группе у 12 пациентов были выполнены повторные оперативные вмешательства для устранения дефекта. В большинстве случаев (10 человек) у повторно прооперированных операцией выбора стало доудаление легкого по типу пневмонэктомии. Однако проведение оперативного вмешательства привело к увеличению риска развития других осложнений, было зафиксировано 2 летальных случая, не связанных с БС.

Таблица 20 – Результаты лечения БС и течения заболевания

Исход	Основная группа, n=57	Контрольная группа, n=34	<i>p</i>
Заживление	53 (93%)	17 (50%)	$< 0,0001$
Дополнительные операции	1	12	$< 0,05$
Рецидив	0	2 (5,9%)	$< 0,05$
Без эффекта	4 (7%)	17 (50%)	$< 0,001$
Летальный исход:	0	12 (35,3%)	$< 0,001$
Инсульт		1 (9%)	
Сепсис		11 (91%)	
Выписка из стационара	12-23 дней (14 дней)	17-43 дней (24 дней)	$< 0,05$

В основной группе время закрытие свища эндоскопически подтверждалось в разный период, в основном в течение 30 дней у 31 человека (58% из 53 случаев) и в период с 30 по 60 дней у 18 человек. Такое время было обусловлено тем, что

пациентов выписывали из стационара с последующим контрольным осмотром через 2-3 недели, но не все пациенты прибывали в указанный срок. Однако клинически положительная динамика в виде отсутствия сброса воздуха, у пациентов в основной группе отмечалась, в среднем, на 12-й день от начала терапии, что служило основанием для выписки пациентов.

В контрольной группе заживление БС было связано именно с повторной операцией, которая имеет риски рецидива и осложнений, включая летальный исход. В то время как пациенты, с клеточной терапией имели более гладкий послеоперационный период, были выписаны домой без клинических признаков БС, но эндоскопически результат подтверждался при повторном осмотре в течение 30 дней.

Применение клеточной терапии снизило время пребывания пациентов в стационаре. Так, пациенты основной группы были выписаны на 12-23-й день (в среднем, на 14-й день) после выявления свища, в то время как пациенты контрольной группы – на 17-43-й день (в среднем, 24-й день), $p < 0,05$.

При оценке эффективности лечебной тактики обеих групп, было продемонстрировано, что в основной группе клеточная терапия была эффективна в 93% ($n=53$) случаев, у остальных 4 пациентов клеточная терапия не оказала должного эффекта. Все пациенты с незажившим свищом находились под наблюдением, и им было показано длительное дренаженосительство. В контрольной группе из 34 пациентов свищ зажил у 17 человек (50%), из которых у 10 пациентов (59% из 17) свищ был устранен вследствие повторного оперативного вмешательства, $p < 0,0001$. В 2-х случаях (5,9%) был рецидив после операции.

При оценке летальных исходов в контрольной группе наблюдалось 35% неблагоприятных исходов, и ни одного зафиксированного летального случая в основной группе, $p < 0,0001$.

При исследовании отдаленных результатов с целью оценки течения основного заболевания пациентов наблюдали более 6 месяцев (до 5 лет). В течение 6 месяцев после операции прогрессирование опухолевого процесса в основной группе отмечалось у 3 человек (5,3%), через 6 месяцев и более – у 11 больных

(19,3%). В контрольной группе у 3 человек (8,8%) были диагностированы признаки прогресса в течение 6 месяцев после операции, еще у 5 больных (14,7%) прогрессирование наблюдалось через 6 месяцев и более.

У 47,4% (n=27) больных в основной группе и у 20,6% (n=7) больных в контрольной группе отсутствовало прогрессирование в течение всего срока наблюдения (до 5 лет), $p>0,05$. В обеих группах, как в основной, так и в контрольной, некоторые пациенты не приезжали на контрольные осмотры, 11 человек и 5 человек, соответственно.

5.5. Результаты оценки биологического влияния клеточного препарата на регенеративные процессы

Основная задача клеточной терапии состоит в стимуляции пролиферации и дифференцировки клеток, неоангиогенеза, иммуномодуляции и подавления воспаления. Соответствующие задачи достигаются путем создания оптимального микроокружения. С целью изучения биологических аспектов заживления при использовании клеточного препарата нами была проведена динамическая оценка противовоспалительных медиаторов, а также факторов роста, как в смывах бронха, так и в периферической крови.

Согласно результатам различных исследований, FGF играет важную роль в процессах регенерации, так как обладает проангиогенным эффектом, что в свою очередь стимулирует миграцию и пролиферацию эпителиальных клеток, а также способствует образованию грануляционной ткани [98, 141, 199].

При проведении сравнительного анализа динамики FGF (Рисунок 51) было выявлено, что его концентрация значительно повышается уже к 3-им суткам в основной группе в периферической крови, в то время как в контрольной группе повышение данного показателя было выявлено только на 7-е сутки ($p<0,0001$). При этом на 3-и сутки его концентрация в периферической крови была в 3,2 раза выше,

чем в контрольной группе (3124 [2937; 4262] пг/мл против 983,7 [901,4; 1031] пг/мл), и в 3 раза выше в смывах из зоны дефекта (46,72 [72,11; 87,84] пг/мл против 5,878 пг/мл), на 7-е сутки выше в периферической крови в 3,8 раз, а в смывах в 11 раз.

Дальнейшее наблюдение продемонстрировало, что увеличение FGF продолжалось и на 12-е сутки (в периферической крови 3623 [3753; 3884] пг/мл. Раннее локальное повышение концентрации FGF способствовало активации фибробластов, а, следовательно, пролиферативной фазе. Данный феномен может также означать, что ранний выброс фактора связан с действием локально введенных клеток.

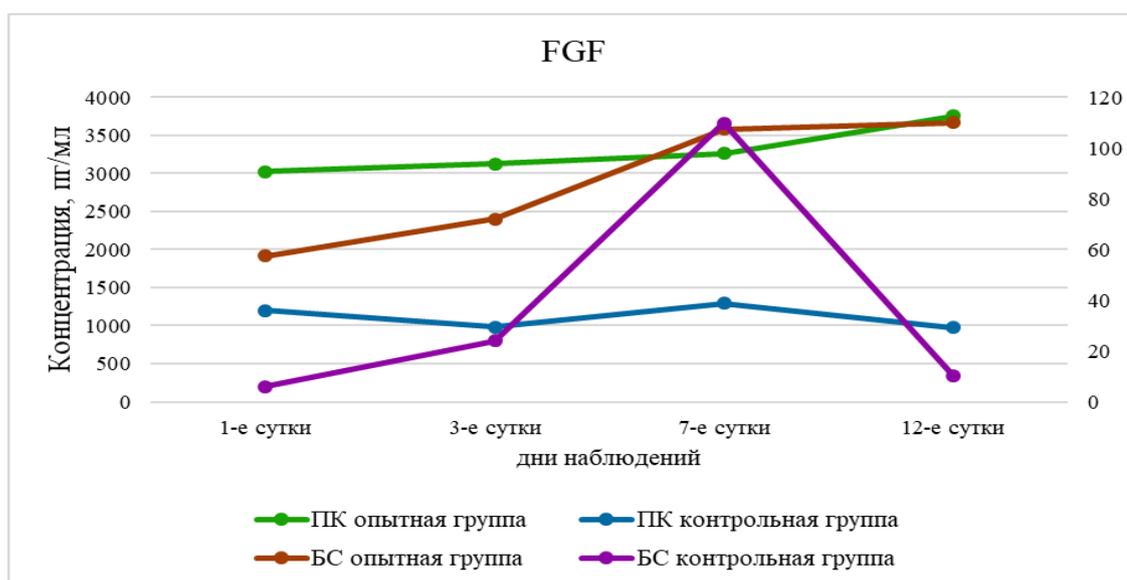


Рисунок 51 – Динамика изменений концентрации FGF в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах

Известно, что выброс PDGF стимулирует миграцию фибробластов и краевую эпителизацию [98]. При проведении сравнительного анализа динамики PDGF (Рисунок 52), было выявлено, что его концентрация значительно повышается в ПК в основной группе к 7-м суткам и выше в 2 раза по сравнению с контрольной группой (6385 пг/мл vs 3190,8 пг/мл), а к 12 суткам выше в 5 раз (16023,3 vs 3209,7 пг/мл), $p < 0,0001$. При этом в смывах концентрация PDGF возрастает уже на 3-и сутки (40,61 пг/мл), в то время как в группе контроля только к 12 суткам (6,33 пг/мл), $p < 0,0001$.

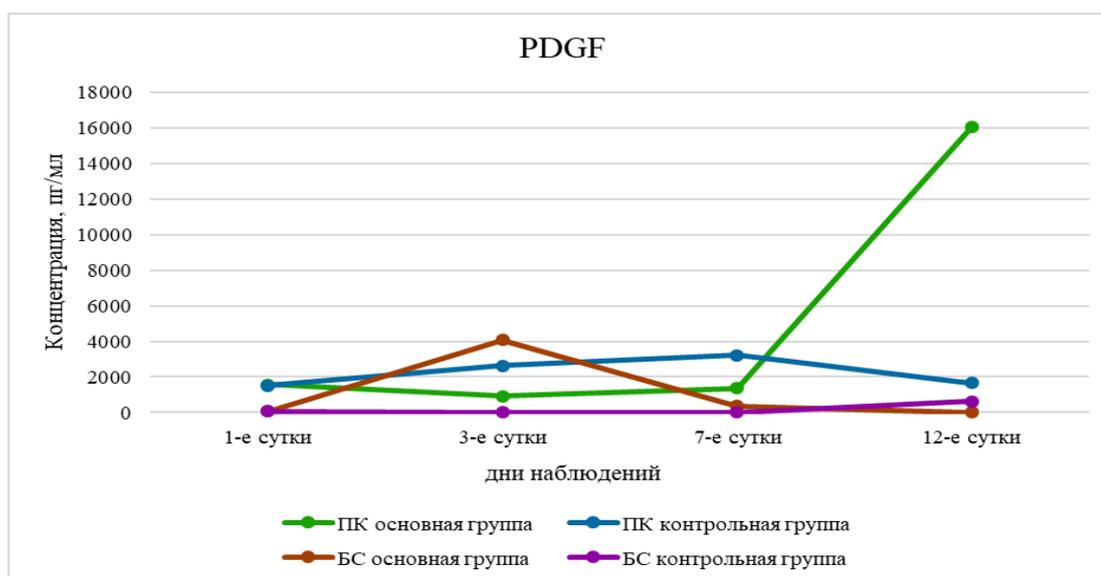


Рисунок 52 – Динамика изменений концентрации PDGF в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах

Изменение концентрации PDGF в смывах свидетельствует, что сначала выброс факторов роста происходил преимущественно в зоне повреждения, и был направлен на раннюю локальную активацию механизмов заживления. Можно предположить, что стимуляция этих процессов вызвана местным введением клеточного препарата, а не системным, но с последующей стимуляцией системного выброса этого фактора.

При изучении динамики концентрации VEGF (Рисунок 53), как основного фактора ангиогенеза, было выявлено, что в основной группе его концентрация повышается как в смывах, так и в периферической крови уже на 3-и сутки (в ПК 1028,3 пг/мл, в смыве 38,6 пг/мл), в то время как в контрольной группе его концентрация в смывах к 3-им суткам в 2 раза ниже, 19,6 пг/мл, ПК значительно возрастает только к 7-м суткам (1247,05 пг/мл), $p < 0,05$. Схожие результаты были получены и на модели экспериментальных животных.

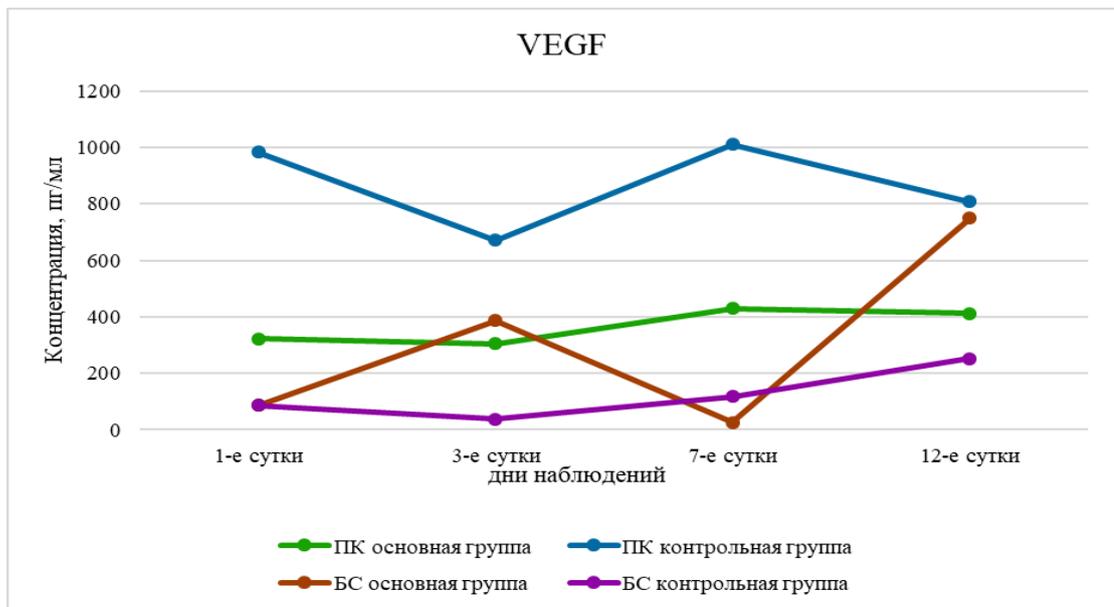


Рисунок 53 – Динамика изменений концентрации VEGF в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах

В обеих группах наблюдалась схожая динамика $TNF\alpha$, что, скорее всего связано с тем, что это острофазовый белок, который повышается при любом типе воспаления, так как его секретируют разные типы клеток, прежде всего, лейкоциты. $TNF\alpha$ также оказывает влияние на активность фибробластов. Было показано его постепенное увеличение как в основной группе, так и группе контроля (Рисунок 54), $p=0,0037$.

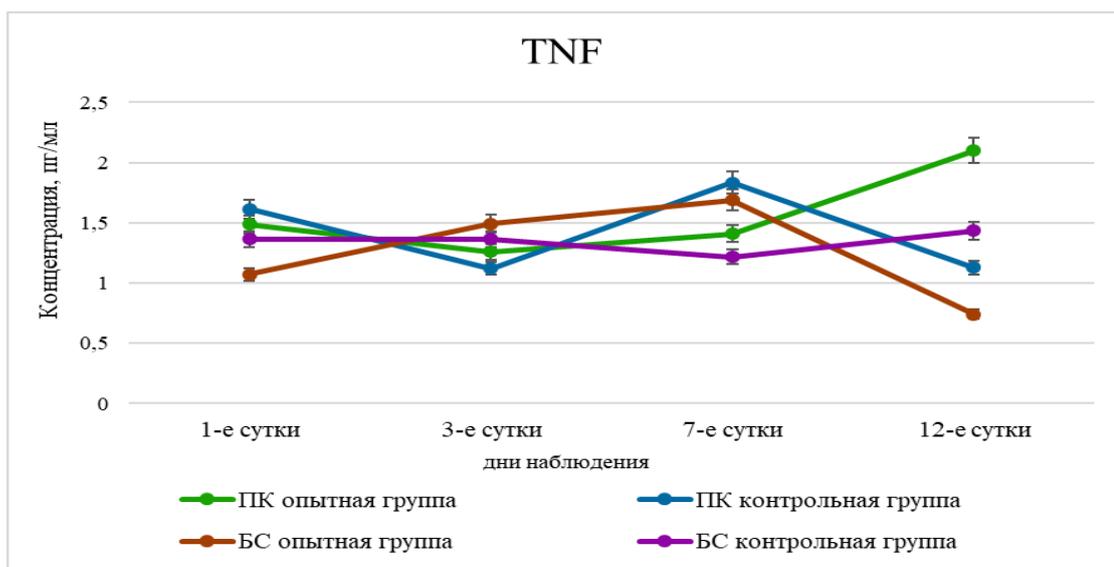


Рисунок 54 – Динамика изменений концентрации $TNF\alpha$ в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах

Наибольшая концентрация TNF α была зарегистрирована на 7-11-е сутки: как в периферической крови – 2,099 [1,633; 2,282] пг/мл – на 11-е сутки, так и локально на 7-е сутки – 1,69 [0,439; 1,993] пг/мл.

IL-8 также демонстрировал результаты, различные в обеих группах. Продуцентами IL-8 являются многие клетки, нейтрофилы, моноциты, Т-лимфоциты, в том числе и фибробласты. IL-8, прежде всего, обладает способностью усиливать выработку провоспалительных цитокинов мононуклеарными клеткам, но показано его влияние и на Т-клеточные реакции [36]. В обеих группах IL-8 возрастал при динамическом наблюдении в течение 1-3 дней после выявления БС (Рисунок 55). Однако в дальнейшем в основной группе в смывах из зоны дефекта его динамика имела тенденцию к снижению уже к 7 суткам (с 343,64 пг/мл до 100,02 пг/мл), в то время как в контрольной группе наблюдалась диаметрально противоположная картина (с 34,5 пг/мл до 167,85 пг/мл).

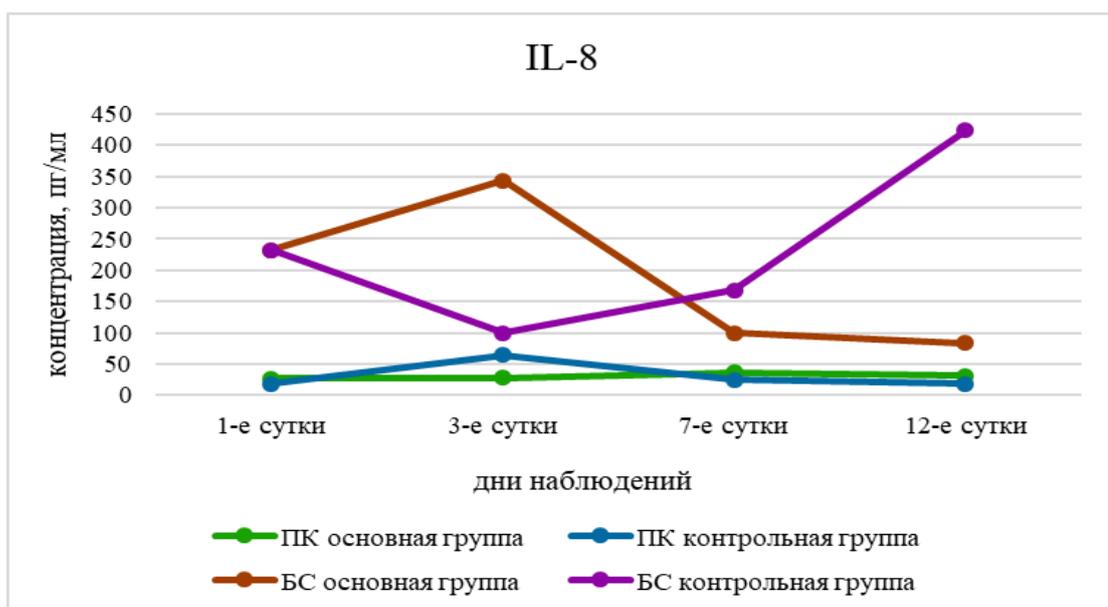


Рисунок 55 – Динамика изменений концентрации IL-8 в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах

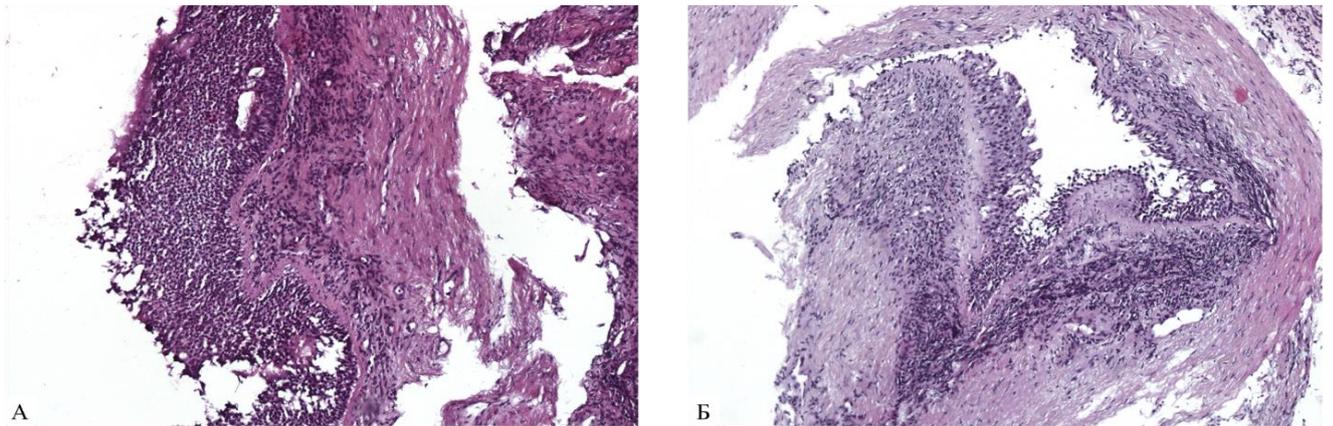
В основной группе дополнительно были исследованы и другие медиаторы: IL-2, IL-4, IL-10, MMP-2, MMP-9. При проведении сравнительного анализа концентрации этих веществ в разные дни наблюдения существенной динамики MMP-2 относительно исходного уровня не выявлено. Однако наибольшее его

повышение было отмечено на 7-е сутки, как в периферической крови (349,7 [466,2; 500,8] пг/мл), так и локально (222,4 [95,73; 349,1] пг/мл, $p=0,0117$). Такое же наблюдение было характерно и для MMP-9, $p=0,0059$.

При изучении динамики провоспалительного медиатора IL-2 существенных различий в периферической крови и в смывах получено не было, тем не менее к 7-м суткам концентрация IL-2 в зоне дефекта была максимальной. Цитокин IL-4 был повышен только в ПК в течение 3 суток, с постепенным снижением, а в смывах не наблюдалось его динамики, $p>0,05$. Повышение противовоспалительного цитокина, IL-10, также было отмечено в течение первых 3 дней, с последующим снижением, в то время как в зоне дефекта существенной динамики не было выявлено, $p>0,05$. Проведенный корреляционный анализ между факторами роста, провоспалительными и противовоспалительными цитокинами выявил достоверную прямую положительную связь FGF с MMP-2 ($r=0,873$), $p=0,001$; сильную обратную связь MMP-2 с PDGF ($r=-0,844$, $p=0,008$) и с VEGF ($r=-0,782$, $p=0,013$), прямую сильную корреляцию между MMP-2 и MMP-9 ($r=0,721$, $p=0,044$) и умеренную положительную связь между MMP-9 и FGF ($r=0,623$, $p<0,05$). Дополнительно, обнаружено, что при увеличении концентрации IL-10 возрастает и концентрация FGF (прямая корреляция, $r=0,682$, $p<0,05$). Полученные данные означают, что при одновременном повышении факторов роста снижаются маркеры тканевого ремоделирования. Но их изменение связано с фактором роста фибробластов, что можно объяснить влиянием FGF на активность фибробластов и образование соединительной ткани. В свою очередь, семейство металлопротеиназ влияет на образование ВКМ, при нарушении баланса которых возможно развитие грубой рубцовой ткани, а, следовательно, стеноза. Поэтому, выявленная корреляция и их динамика способствует нормальному, а не патологическому заживлению.

В подтверждение этим наблюдениям был проведен морфологический анализ биоптата, полученный во время лечебных ФБС. В первые дни морфологическая картина соответствовала активному воспалительному процессу, характерному для

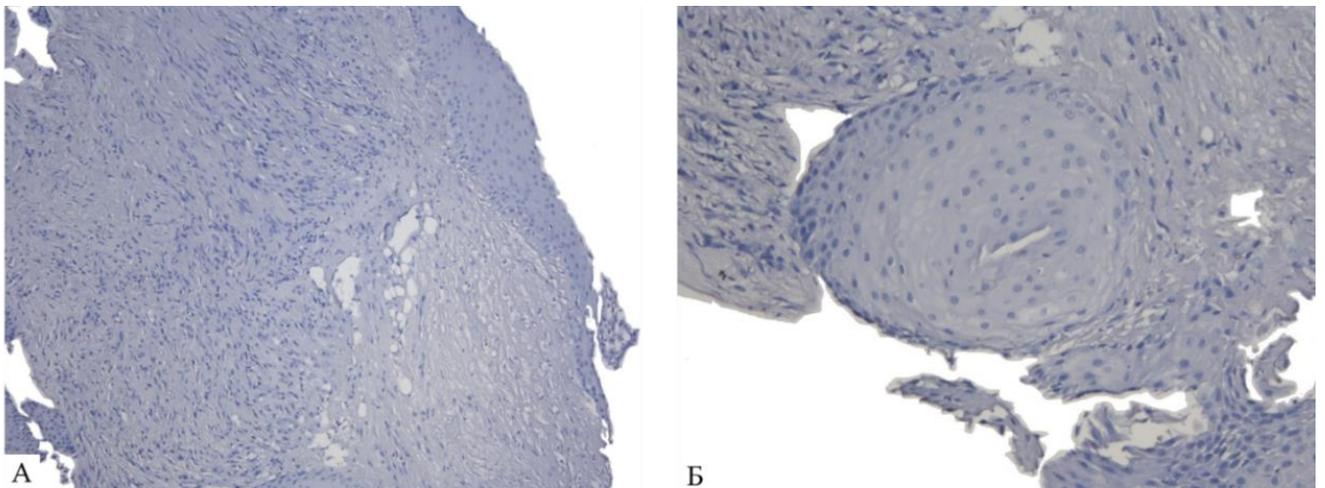
обеих групп (Рисунок 56). Обнаружены скопления полиморфноядерных клеток в подслизистом слое, признаки гнойного воспаления.



Примечание – Окраска гематоксилин и эозином. А) увеличение $\times 10$; Б) увеличение $\times 10$

Рисунок 56 – Морфологическая картина области дефекта, 1-е сутки

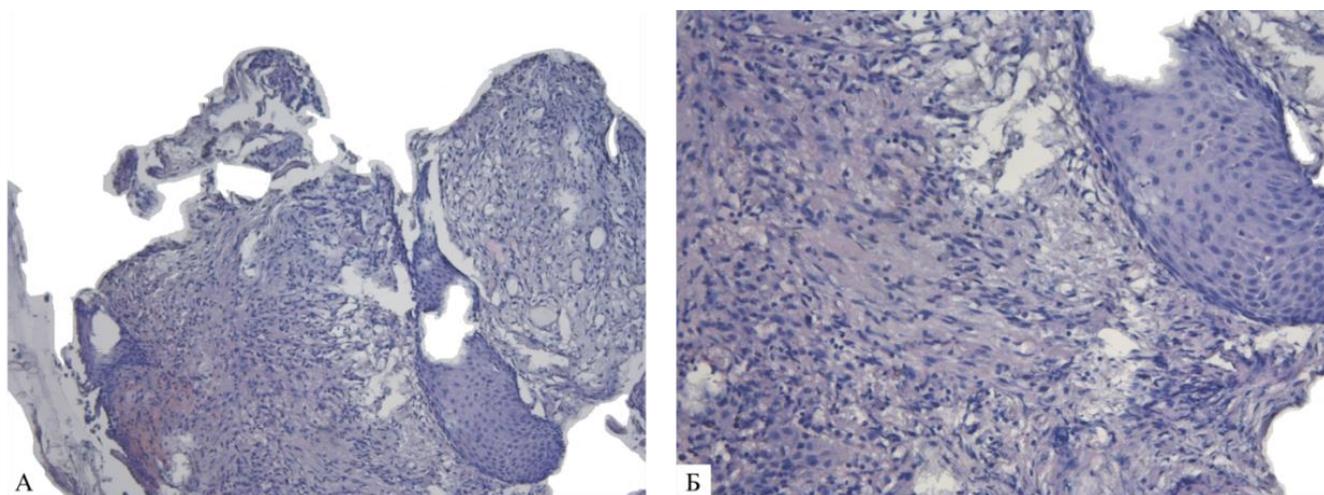
При гистологическом исследовании области дефекта было выявлено, к 8-м суткам воспалительные элементы нивелируются, формируется рыхлая соединительная ткань, сверху наползает метаплазированный многослойный плоский эпителий (Рисунок 57).



Примечание – Окраска гематоксилин и эозином. А) увеличение $\times 10$; Б) увеличение $\times 40$

Рисунок 57 – Морфологическая картина области дефекта, зона введения клеточного препарата через 8 дней от начала терапии

В отличие от основной группы, в контрольной группе была иная динамика. Воспаление стало стихать только к 14-м суткам, в тех образцах, где была положительная картина заживления (Рисунок 58).



Примечание – Окраска гематоксилин и эозином. А) увеличение $\times 10$; Б) увеличение $\times 40$

Рисунок 58 – Морфологическая картина области дефекта контрольной группы через 14 дней от момента диагностики БС

В случаях отсутствия заживления дефекта наблюдались признаки хронического воспаления. Несмотря на наличие вялой грануляционной ткани, сохранились признаки воспалительной инфильтрации.

Таким образом, результаты изучения динамики биологически активных веществ, принимающих участие в стадиях воспаления и заживления, а также морфологический анализ позволяет сделать заключение о положительном влиянии клеточного препарата на процессы заживления ткани. Во-первых, происходит более раннее локальное снижение провоспалительных цитокинов, при этом гистологически также показано менее выраженные признаки воспаления к 8-м суткам с момента начала терапии. Во-вторых, показана стимуляция процессов регенерации, так как данные гистологического анализа демонстрируют появление рыхлой волокнистой соединительной ткани уже на 8-е сутки наблюдения, что дополнительно подтверждается более ранним увеличением концентрации факторов роста (на 3-и сутки), а также такого фактора, как VEGF, свидетельствующего о неоангиогенезе.

5.6. Результаты клинического применения клеточного препарата для профилактики бронхиальных пострезекционных осложнений

Для изучения эффективности клеточного препарата для профилактики возникновения послеоперационных осложнений в исследование было включено 19 человек с высоким риском развития бронхоплевральных осложнений. После завершения основного этапа операции и формирования культи бронха в стенку бронха вводили аллогенные фибробласты и аутологичный лизат тромбоцитов.

Показанием к местному использованию клеточного препарата считали гангренозный абсцесс, гангрену легкого, расширенную травматическую лимфодиссекцию, плевропневмонэктомию при инвазии опухоли в плевру, резекцию легкого в условиях эмпиемы (рак с распадом, нагноительные заболевания легких с вовлечением плевральной полости или внутрилегочным кровотечением, деструктивный туберкулез со вскрытием каверны в плевральную полость).

Средний возраст пациентов составил $62,1 \pm 9,4$ также как и в группах с БС. При распределении по полу преобладали мужчины – 15 человек (79%), 4 – женщины (21%).

В зависимости от основного заболевания, по поводу которого выполняли оперативное вмешательство, пациенты были распределены следующим образом: рак легкого у 15 человек (79%), туберкулез на фоне туберкулезной эмпиемы – 1 человек (5%), 1 пациент с нетуберкулезным микобактериозом (5%) и 2 пациента с деструктивной пневмонией на фоне эмпиемы плевры (11%).

Спектр операций, после которых развились бронхоплевральные осложнения у 91 пациентов, и оперативные вмешательства у 19 человек, когда клеточный препарат использовали с профилактической целью, был практически идентичным, что отражено в таблице 21.

Таблица 21 – Сравнение вариантов первичных операций между группой с применением клеточного препарата с БС и группой с интраоперационным введением

Вариант операции	Группы больных		Всего
	Операции, после которых возникли бронхиальные свищи (основная и контрольная группа)	Операции с интраоперационным введением (профилактическое применение)	
Пневмонэктомия	54 (59,2%)	16 (84,2%)	70
Лобэктомия	32 (35,2%)	3 (15,8%)	35
Билобэктомия	5 (5,6%)	0	5
Итого	91 (100%)	19 (100%)	110

В профилактической группе пациентов клеточный препарат вводили в область культи соответствующего бронха из нескольких точек, расположенных по периметру. Введение было однократным во время операции. При резекции трахеи клеточную терапию с профилактической целью не применяли. В послеоперационном периоде контроль эффективности данного лечения производили с помощью ФБС и лабораторных показателей, сравнивая их с показателями экспериментальной части исследования на животных и с группой больных, у которых клеточная терапия применялась с лечебной целью.

Большинство пациентов имели коморбидный фон, и факторы риска несостоятельности культи бронха. Из сопутствующих заболеваний у 7 человек были выявлены заболевания сердечно-сосудистой системы в виде гипертонической болезни, атеросклероза аорты, мультифокального атеросклероза, перенесенного инфаркта миокарда. Двое пациентов страдали сахарным диабетом и ожирением, у 3 пациентов в анамнезе был ХОБЛ, у 2 – астма. У 4 пациентов была проведена ПХТ или ДЛТ в качестве первого этапа лечения.

Из 19 случаев 15 операций были выполнены с правой стороны, 4 – слева. Всего было проведено 16 пневмонэктомий, из которых 3 – доудаления легкого

справа по причине наличия БС, и 3 – лобэктомии верхней доли. В 11 случаях культя бронха дополнительно укреплялась. Из трех случаев повторной операции у одного пациента доудаление легкого было выполнено через 10 дней по причине развития БС. Во втором случае после операции был начат курс ПХТ, и через 1,5 после операции были отмечены повышение температуры, признаки пневмонии и БС, что потребовало повторной операции по типу завершающей пневмонэктомии. У третьего пациента развился стеноз бронхиального анастомоза через 2 месяца, была выполнена пневмонэктомия. Послеоперационный период в 17 случаях протекал без особенностей, в одном случае развился пневмоторакс, что потребовало дренирования, нагноение раны было зафиксировано также в одном случае.

В отдаленном периоде среди 15 пациентов с онкологическим диагнозом у 7 не было зафиксировано прогрессирования основного заболевания. У 2 пациентов прогрессирование онкопроцесса было диагностировано через 1 год и более после лечения. Данные о состоянии оставались недоступными у 6 пациентов.

Клиническая эффективность профилактики предлагаемого клеточного препарата была 100%. Ни у одного пациента, несмотря на характер заболевания, тяжесть состояния и сложность оперативного вмешательства, в послеоперационном периоде не было осложнений со стороны культи бронха или остаточной плевральной полости.

Дополнительно были изучены биологические маркеры, отражающие тканевые процессы. Для этого был проведён анализ изменений различных медиаторов в периферической крови и бронхиальных смывах из культи. Полученные результаты были сопоставлены с результатами экспериментальных исследований. Динамика медиаторов в периферической крови представлена на рисунке 59 и в смывах из бронхов на рисунке 60.

Были выявлены динамические изменения факторов роста. Уровень VEGF повышался как в периферической крови, так и в смывах из культи бронха. Начиная с 3-их суток, его уровень составил 44,62 [26,47; 62,77] пг/мл в смыве из бронха. Повышенный уровень также был выявлен на 11-е сутки наблюдения – 50,7 пг/мл. В периферической крови было отмечено возрастание концентрации VEGF также с

3-их суток – 977,8 [932,8; 1023] пг/мл, с максимальным увеличением до 1423 на 11-е сутки. Результаты показали статистически значимое различие между разными днями наблюдения, $p=0,0118$ и соответствовали результатам экспериментального наблюдения, где уровень VEGF также достиг максимального уровня в период с 7-го по 14-й день.

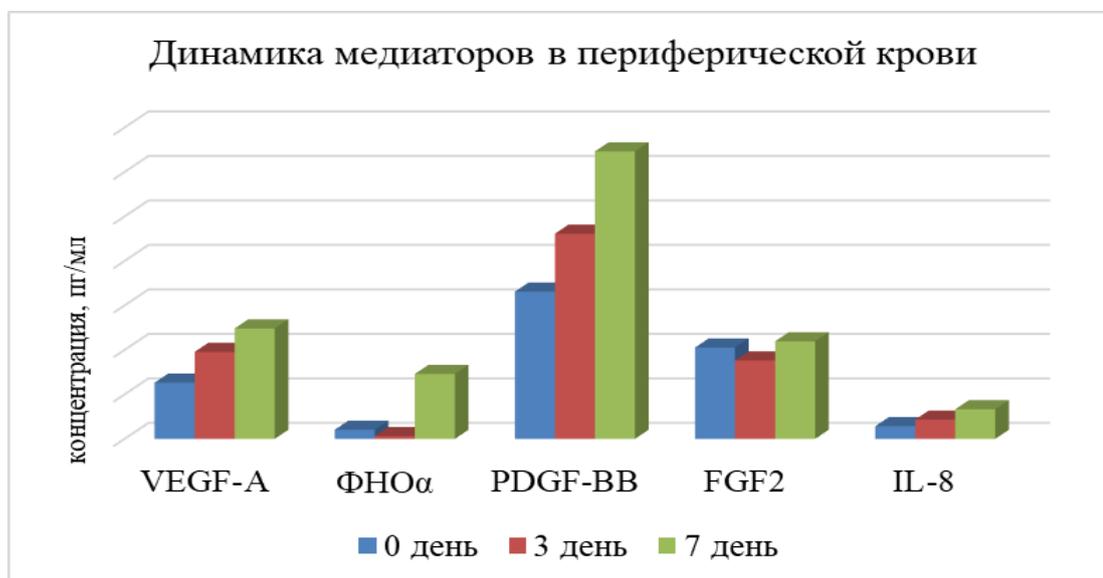


Рисунок 59 – Динамика медиаторов при профилактическом применении клеточного препарата в периферической крови

В периферической крови было отмечено увеличение PDGF на 3-и сутки до 3231 [1997; 4466] пг/мл, также как в группе приматов, при этом концентрация оставалась повышенной в течение всего периода контроля. В образцах, полученных из бронхов, повышенная концентрация FGF была зафиксирована на 3-и сутки и составляла 88,24 пг/мл с постепенным снижением к 11-му дню до 14,76 пг/мл. В периферической крови уровень FGF также постепенно увеличился с 881,3 [550,1; 1213] пг/мл на 3-и сутки до 1097 [917,1; 1276] пг/мл на 7-е сутки, $p<0,0001$, что соотносилось с ранее полученными данными в эксперименте. В периферической крови было зафиксировано увеличение TNFα с 1,024 [0,1402; 1,908] пг/мл в дооперационном периоде до 7,308 [0,3738; 14,24] на 7-е сутки с дальнейшим снижением. При локальной оценке динамики этого медиатора также было выявлено его увеличение на 7-11-е сутки, $p<0,005$. Подобное может означать,

что локально $TNF\alpha$ потенцирует действие фибробластов, стимулируя их функциональную активность.

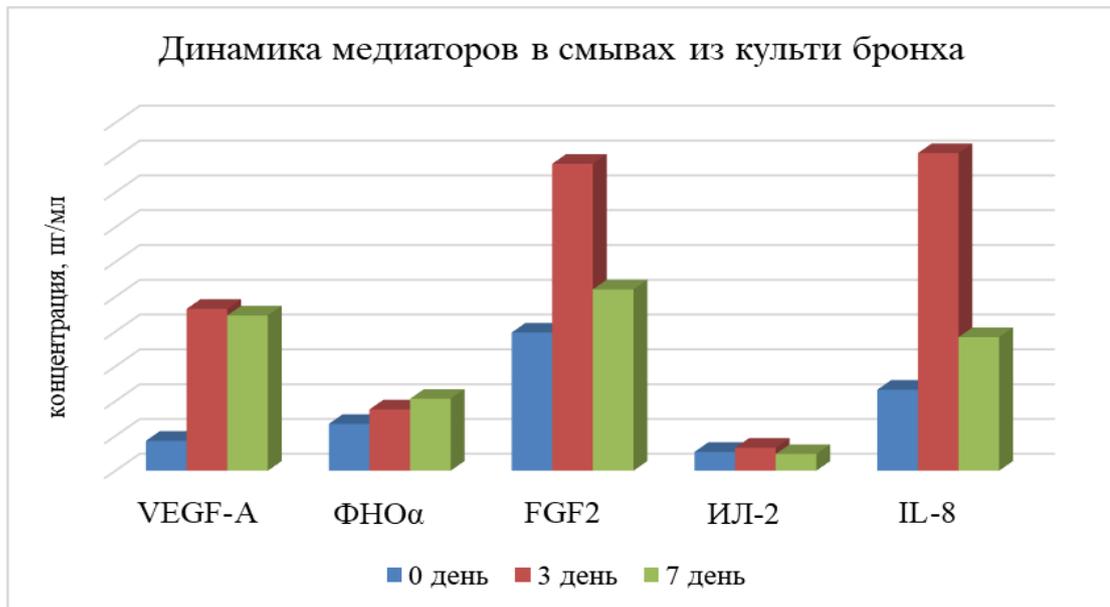


Рисунок 60 – Динамика медиаторов при профилактическом применении клеточного препарата в смывах из культуры бронха

Полученные результаты свидетельствуют о тканевой биологической совместимости клеточного препарата, а также о потенцировании процессов восстановления ткани, начиная с 3-их суток.

5.7. Анализ онкологической безопасности применения клеточного препарата

При изучении отдаленных результатов одной из задач исследования было подтверждение онкологической безопасности предлагаемого способа. В настоящее время в мировой литературе проводится анализ серьезных осложнений после клеточной терапии, согласно которому делается заключение об отсутствии туморогенности и онкогенности клеточных препаратов на основе мультипотентных и прогениторных клеток [205].

Тем не менее, настороженность относительно клеточных препаратов среди клиницистов продолжает сохраняться. В нашем исследовании мы провели сравнение частоты прогрессирования онкологического процессов у всех пациентов, оперированных по поводу рака легкого с пациентами, у которых проводилась клеточная терапия как интраоперационно, так и для лечения БС (Таблица 22).

Таблица 22 – Сравнение частоты прогрессирования рака легкого

Патология	Пневмонэктомия и лобэктомия	Прогрессирование в течение 5 лет		Нет прогрессирования в течение 5 лет	
		абс	%	абс	%
Рак легкого	4370	1586	36,3%	2784	63,7%
Рак легкого и клеточная терапия	67	16	23,9%	51	76,1%

Так, у 4370 больных оперированных в 2017–2023 годах по поводу рака легкого, прогрессирование в период наблюдения от 6 месяцев до 5 лет диагностировали у 1586 человек, что составило 36,3%. В группе сравнения с диагнозом рак легкого и с применением клеточной терапии (основная группа с лечением БС (n=52) и профилактическое интраоперационное введение (n=15)) этот показатель составил 23,9% (n=16) человек из 67 пациентов, $p > 0,05$.

Таким образом, введение клеточного продукта не повлияло на прогрессирование опухолевого процесса, что доказывает онкологическую безопасность предложенной методики. Однако количество клинических наблюдений является ограниченным, а срок наблюдения — недостаточным для формирования достоверных выводов. Полученные знания о безопасности и переносимости повлияют на планирование более крупных научных исследований по применению инновационных клеточных технологий для купирования тяжелых пострезекционных бронхоплевральных осложнений в торакальной хирургии.

Полученные результаты свидетельствуют об оправданности дальнейшего применения данной профилактической методики у пациентов с высоким риском развития послеоперационных гнойно-воспалительных бронхоплевральных осложнений.

Резюме 5

Таким образом, учитывая проведенные клинические исследования, можно констатировать, что их результаты полностью совпадают с экспериментальными данными. Предложенный запатентованный клеточный продукт безопасен в клиническом использовании у пациентов, перенесших резекционные операции на легких. Его применение при бронхоплевральных послеоперационных свищах эффективно и позволяет в относительно короткие сроки устранить БС у 97% больных, тем самым способствуя купированию эмпиемы остаточной плевральной полости. Своевременная профилактика гнойно-воспалительных осложнений онкологических пациентов способствует раннему началу адьювантной ПХТ. Клеточный продукт относительно прост в приготовлении, хранении и местном введении. Не требуется длительное время его ожидания, что важно для пациентов с возникшей несостоятельностью трахеобронхиальных швов, сформировавшимся БС и эмпиемой плевры. Предварительные результаты онкологической безопасности препарата свидетельствуют о том, что он не провоцирует прогрессирование опухолевого процесса. Представляется важным и перспективным то, что предлагаемая клеточная терапия может быть применена и с профилактической целью у пациентов с высоким риском развития тяжелых, а порой фатальных послеоперационных бронхоплевральных осложнений. Это может существенно повысить резектабельность в торакальной хирургии за счет расширения показаний к радикальному лечению подобной категории больных.

ГЛАВА 6

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВАКУУМ-АССИСТИРОВАННОЙ ПОВЯЗКИ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПОСТПНЕВМОНЭКТОМИЧЕСКОЙ ЭМПИЕМЫ ОСТАТОЧНОЙ ПЛЕВРАЛЬНОЙ ПОЛОСТИ

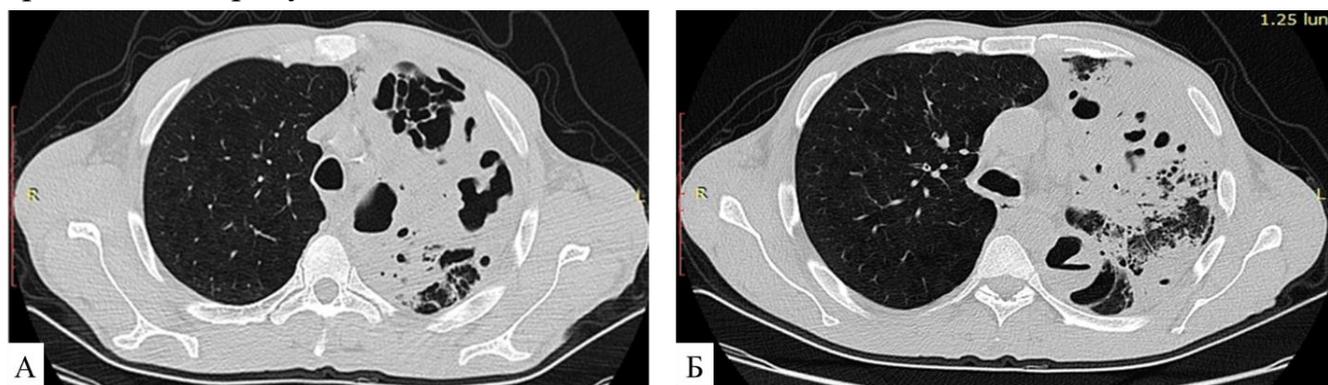
Частота развития гнойно-воспалительных осложнений после резекции легкого имеет тенденцию к своему снижению. Однако такую ситуацию все еще встречаются в практике торакального хирурга и онколога. Особую остроту проблема имеет при выполнении пневмонэктомии. Она может запустить целый каскад патологических процессов, еще более тяжелых и фатальных осложнений (дыхательная недостаточность, пневмония единственного легкого, формирование бронхиальной или торакальной фистул, аррозивное кровотечение и т.д.). Из угрожающих жизни осложнений следует отметить развитие сепсиса с последующей полиорганной недостаточностью, аррозивные кровотечения из крупных сосудов корня легкого и средостения. Все это обуславливает сохраняющуюся высокую летальность при постпневмонэктомической эмпиеме плевры – от 4 до 33% [95,121].

Вся история современной резекционной торакальной хирургии связана с усовершенствованием профилактики и лечения послеоперационной эмпиемы плевры [24]. В настоящей главе был проведен сравнительный анализ 2-х групп пациентов, перенесших пневмонэктомию. В первую группу (контрольная) вошли пациенты, всего 32 человека, у которых в послеоперационном периоде развилась постпневмонэктомическая эмпиема плевры без свища главного бронха. Контрольную группу лечили традиционными способами. Вторую (основную) проспективную группу составили 13 пациентов, у которых использовали ВАП для профилактики развития эмпиемы плевры. Все пациенты имели тяжелый воспалительный процесс в легком. В нашем исследовании спектр заболеваний и состояний в основной и контрольной группах был практически идентичными, $p > 0,05$ (Таблица 23).

Таблица 23 – Спектр заболеваний и состояний, повышающих риск бронхоплевральных постпневмонэктомических осложнений

Заболевания и состояния	Контрольная группа	Основная группа	Всего
Гангрена легкого	6 (18,8%)	3 (23%)	9 (20%)
Деструкция легкого в сочетании с эмпиемой плевры	10 (31,2%)	4 (30,8%)	14 (31,1%)
Деструкция легкого и легочное кровотечение	3 (9,4%)	2 (15,4%)	5 (11,1%)
Доудаление легкого	13 (40,6%)	4 (30,8)	17 (37,8%)
Итого	32 (100%)	13 (100%)	45 (100%)

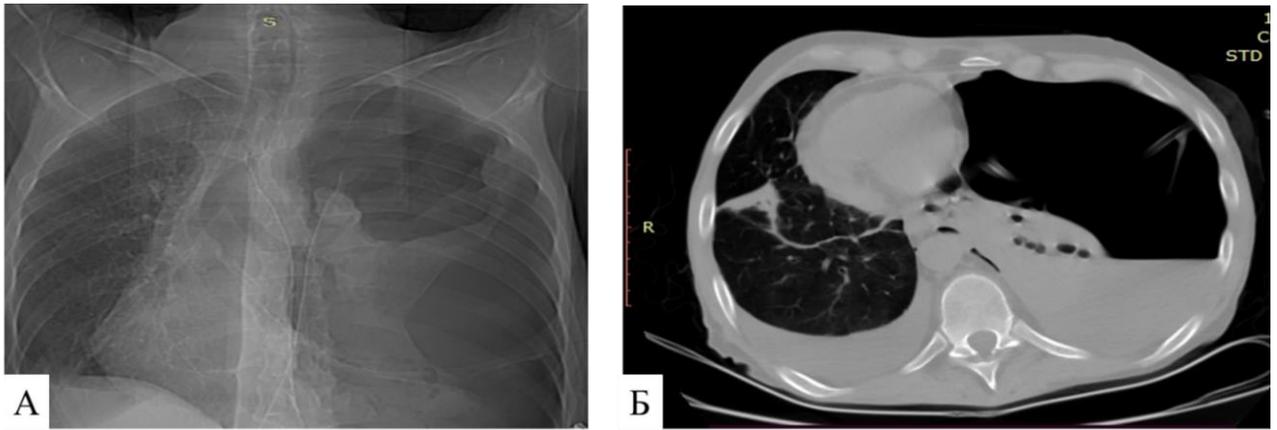
Диагностика заболеваний и состояний у больных с повышенным риском бронхоплевральных осложнений основана на лучевых и эндоскопических методах визуализации. Примеры результатов рентгенологического исследования приведены на рисунках 61 – 63.



Примечание – Гангрена легкого. А,Б) КТ-картина легких. На фоне инфильтративного процесса определяются множественные очаги деструкции

Рисунок 61 – КТ органов грудной полости (аксиальные срезы)

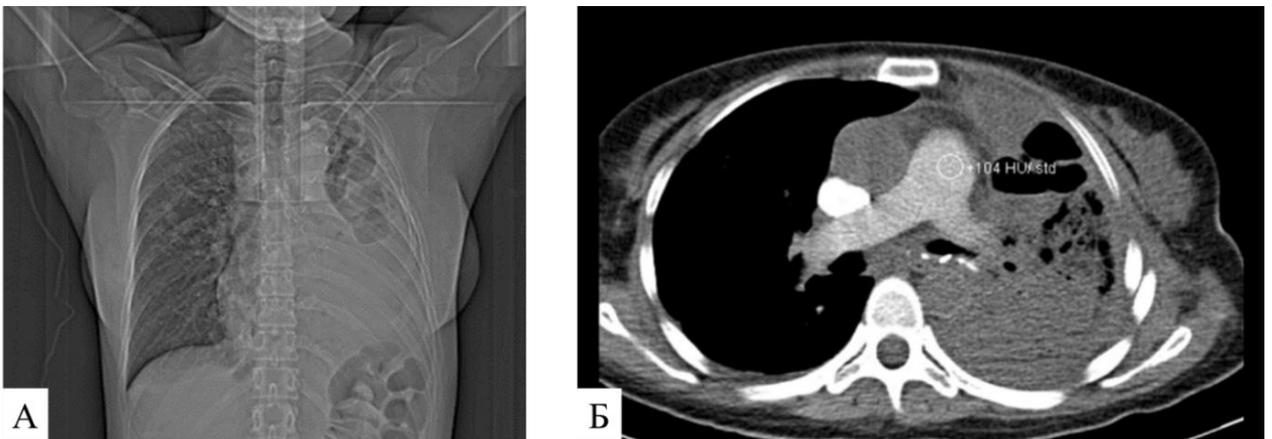
На рисунке 62 представлены КТ-снимки постпневмонической деструкции легкого с прорывом в плевральную полость и признаками эмпиемы плевры в виде пневмоторакса с горизонтальным уровнем жидкости. В правой плевральной полости небольшое количество жидкости.



Примечание – А) Рентгенограмма грудной клетки в прямой проекции. Б) КТ легких (аксиальный срез)

Рисунок 62 – Рентгенологическая картина постпневмонической деструкции легкого

В некоторых случаях деструкция легкого с эмпиемой плевры (Рисунок 63) сопровождается легочным кровотечением.

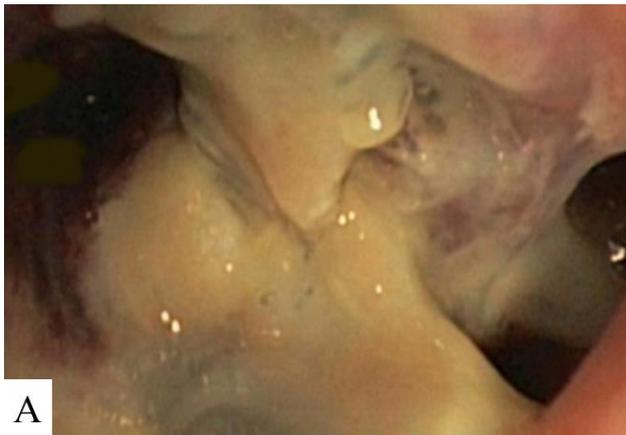


Примечание – А) Рентгенограмма грудной клетки в прямой проекции. Б) КТ легких (аксиальный срез) с внутривенным усилением

Рисунок 63 – Рентгенологическая картина. Деструкция легкого с эмпиемой плевры

Эндоскопические методы диагностики позволяют выявить изменения в стенке анастомоза. При его несостоятельности возможно проведение повторного оперативного вмешательства.

На рисунке 64 представлены данные эндоскопического исследования и интраоперационная макроскопическая картина легкого. При ФБС определяется несостоятельность бронхиального анастомоза после верхней лобэктомии с бронхопластикой. Стенки бронхов покрыты большим количеством фибриновых масс (Рисунок 64А). Интраоперационная картина была представлена легким в состоянии ателектаза, покрытым фибрином, также определялся инфильтрат в области главного бронха с бронхоплевральным свищом, было выполнено доудаление легкого (Рисунок 64Б).



Примечание – А) Эндоскопическая картина; Б) Интраоперационная картина

Рисунок 64 – Несостоятельность бронхиального анастомоза после верхней лобэктомии

К общим факторам риска развития эмпиемы плевры относят особенности общего состояния пациента, которые могут влиять на низкий реабилитационный потенциал: низкая физическая активность, признаки астенизации и интоксикации различного генеза, снижение аппетита и т.п. Также увеличению риска способствуют сопутствующие заболевания (сахарный диабет, распространенный атеросклероз, ожирение, низкая масса тела, заболевания, требующие гормональной стероидной терапии, иммунодефицитные состояния, хронический сепсис).

Технические особенности операций у больных основной и контрольной групп были практически одинаковыми, $p > 0,05$ (Таблица 24). Осложнения основного гнойно-воспалительного характера увеличивали травматичность самого хирургического вмешательства. Структура тканей, а также их сниженная

устойчивость к механическому воздействию, способствовали повышенному риску повреждений и увеличивали кровоточивость. Важным этапом операции была механическая и химическая санация полости эмпиемы. Эвакуация содержимого, удаление фибрина и максимально возможное иссечение некротизированных и измененных тканей были обязательными условиями, снижающими риск послеоперационных осложнений. С этой же целью применялось и укрытие культи главного бронха различными тканями. В исследовании предпочтение отдавалось собственным тканям с сохраненным кровоснабжением, преимущественно перемещенным мышечным лоскутам и перикарду.

Таблица 24 – Технические особенности и локальные изменения при выполнении операций в двух группах пациентов

Технические особенности операций	Контрольная группа	Основная группа
Распространенная эмпиема плевры	13 (41%)	4 (31%)
Локальная «прикультевая» эмпиема	13 (41%)	4 (31%)
Массивные плевральные сращения	24 (75%)	9 (69%)
Интраоперационное кровотечение	3 (9%)	2 (15%)
Некроз главного бронха	12 (36%)	3 (23%)
Пневмония противоположного легкого	3 (9%)	1 (8%)
Операция по неотложным показаниям	6 (18%)	3 (38%)

При сравнении развития послеоперационных осложнений в обеих группах было отмечено, что в контрольной группе частота их развития была выше, $p < 0,05$. Традиционно осложнения подразделяли на хирургические и нехирургические (Таблица 25). Однако, патогенез обоих вариантов осложнений часто оказывался

взаимосвязанным. Например, хирургическое осложнение в виде несостоятельности культи главного бронха обуславливало развитие пневмонии единственного легкого, дыхательную недостаточность, а интоксикация – нарушение ритма и обострение заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Таблица 25 – Характер послеоперационных осложнений в контрольной и основной группах больных

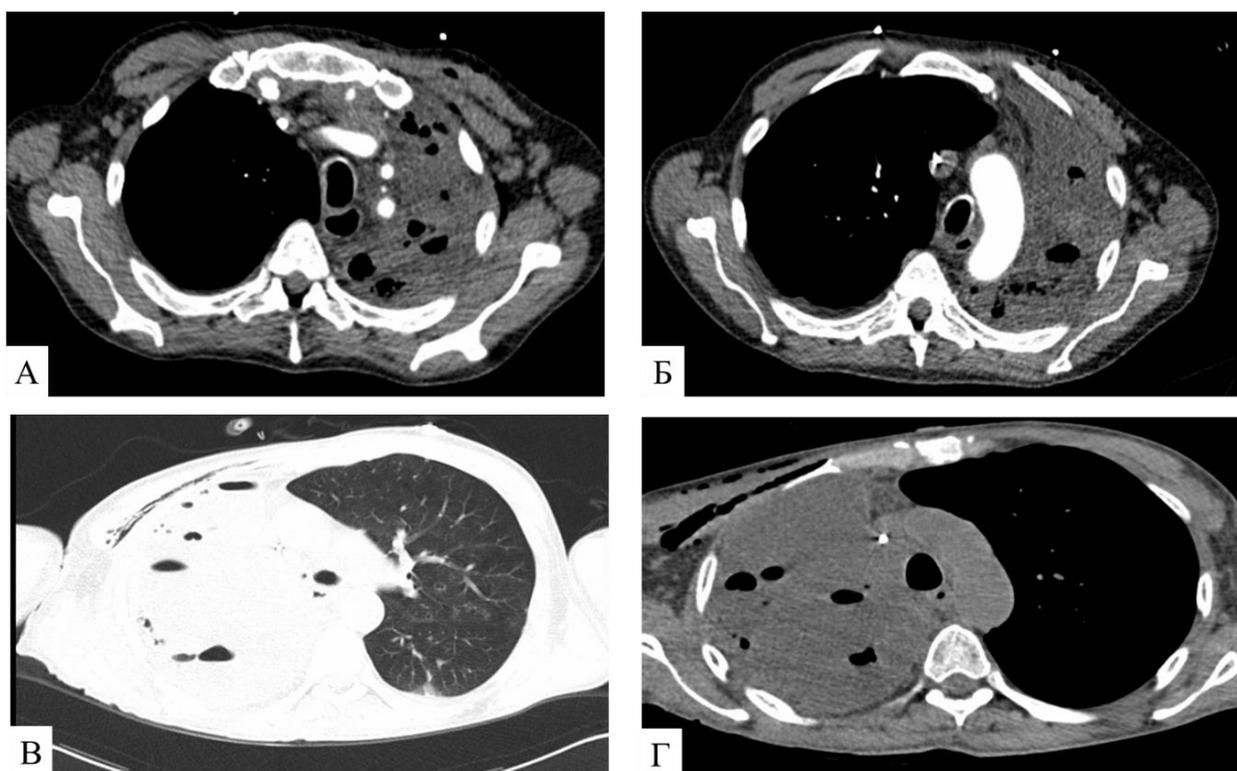
Осложнения	Контрольная группа	Основная группа	Всего
Нехирургические			
Пневмония противоположного легкого	5 (1)	1	6 (1)
Дыхательная недостаточность	8	2	10
Нарушение ритма	4	1	5
Инфаркт миокарда	1 (1)	0	1 (1)
Острый венозный тромбоз	4	1	5
ТЭЛА	2 (1)	0	2 (1)
Длительная гипертермия	11	0	11
Желудочно-кишечное кровотечение	2	1	3
Прочие	13	5	18
Хирургические			
Нагноение раны	6	2	8
Острая эмпиема плевры	5 (1)	0	5
Хроническая эмпиема (выписаны с дренажом)	2	0	2
Эмпиема и нагноение раны	6	0	6
Эмпиема в сочетании с нагноением раны и БС	2 (1)	0	2 (1)
Остеомиелит ребер	3	0	4

Послеоперационный период у пациентов контрольной группы был достаточно разнообразным. Без осложнений послеоперационный период протекал только у 4 (12,5%) человек. Общая частота осложнений в группе контроля

составила 87,5% (n=28). При этом непосредственно гнойно-воспалительные осложнения, связанные с характером заболевания и особенностями операции выявили у 13 (40,625%) пациентов. Раннюю эмпиему плевры диагностировали у 5 (15,625%) больных, эмпиему плевры и нагноение послеоперационной раны – у 6 (18,75%). Эмпиема плевры и нагноение раны у 2 (6,25%) пациентов привели к несостоятельности культи главного бронха.

Лечение осложнений у пациентов контрольной группы было также разнообразным. В каждом варианте был свой алгоритм ведения и лечения.

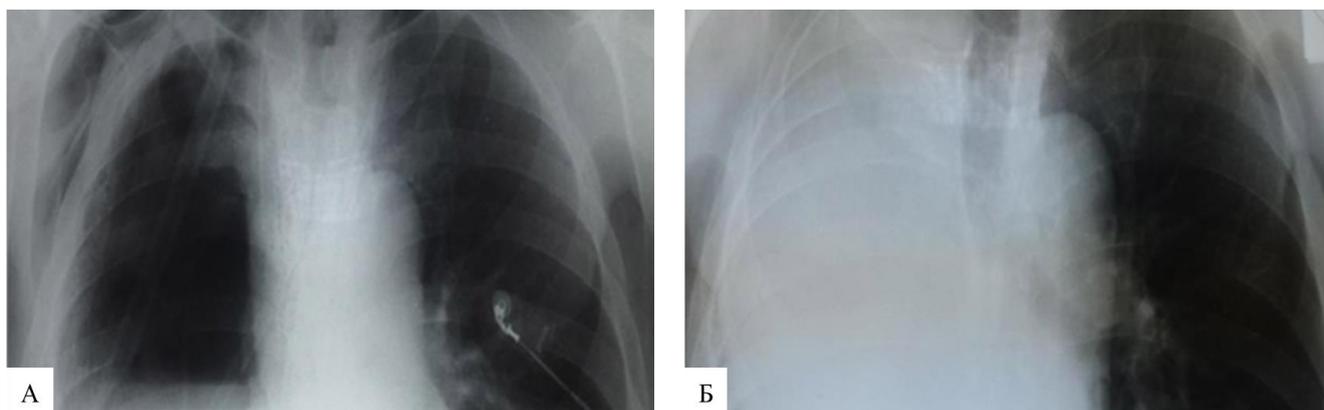
Первый вариант включал в себя стандартное ведение пациентов после пневмонэктомии с «гладким» послеоперационным периодом. Подобное благоприятное течение было лишь у 4 из 32 больных, что составило 12,5%. У них не диагностировали ни хирургических, ни нехирургических осложнений. Дренаж остаточной плевральной полости у этих пациентов проводили в течение первых 3–10 суток. Таким образом, контролировали кровотечение, что было актуально с учетом выполненного пневмолиза и кровоточивости тканей, выявленных непосредственно во время хирургического вмешательства. В ближайшие несколько суток после операции им проводили антибактериальную терапию с учетом чувствительности микрофлоры, полученной до операции при исследовании плеврального пунктата. Микробиологический мониторинг плеврального отделяемого продолжали и после операции. Кроме этого, изучали его цитограмму для выявления первых признаков эмпиемы. Дренаж удаляли при отрицательных результатах посева плеврального содержимого и наличии тенденции к снижению числа нейтрофилов при одновременном увеличении количества лимфоцитов. После удаления дренажа плевральную полость продолжали «вести» пункционно с целью сформировать фиброторакс. В этой группе пациентов обязательно проводили мониторинг общеклинических лабораторных показателей крови, в зависимости от изменения которых меняли медикаментозную терапию. На рисунке 65 показаны примеры формирования фиброторакса после пневмонэктомии. Раннюю фрагментацию остаточной плевральной полости отмечали у всех пациентов, оперированных по поводу гнойно-воспалительных процессов.



Примечание – А, Б, В, Г) Примеры формирования фиброторакса после пневмонэктомии

Рисунок 65 – КТ органов грудной клетки (аксиальные срезы)

Второй вариант ведения послеоперационного периода при формировании острой эмпиемы был у 7 пациентов, из которых один умер от прогрессирования сепсиса. У 2-х сформировалась хроническая эмпиема, их выписали в удовлетворительном состоянии с дренажом. При появлении клинических симптомов и воспалительных проявлений в лабораторных показателях плеврального пунктата и периферической крови начинали раннее лечение, которое заключалась в периодической видеоассистированной торакоскопической хирургической санации плевральной полости с сохранением дренажа. Последний удаляли в сроки от 7 до 48 суток, после чего фиброторакс формировали пункционно. На рисунке 66А показана остаточная плевральная полость после ее торакоскопической санации и дренирования, горизонтальный уровень жидкости, на рисунке 66Б показано формирование фиброторакса через 48 суток, при этом плевральная полость уменьшена в размере, органы средостения смещены в оперированную сторону.



Примечание – А) Остаточная плевральная полость; Б) Фиброторакса через 48 суток
 Рисунок 66 – Рентгенограммы органов грудной клетки в прямой проекции

Третий вариант послеоперационного периода у пациентов контрольной группы был использован у 6 человек с нагноением раны, у которых развилась эмпиема плевры. Первоначально лечение таких пациентов было аналогично лечению при втором варианте послеоперационного периода. Рану дренировали и проводили местное лечение. Благодаря периодической торакоскопической санации плевральной полости и ее длительному дренированию, добиться излечения удалось у 4 больных. Остальным 2-м пациентам пришлось выполнить торакомиопластику. При проведении торакотомии выявлена эмпиема остаточной плевральной полости, фиброзные наложения по всем ее стенкам, силиконовый дренаж (Рисунок 67А). Мягкие ткани грудной стенки были инфильтрированы, покрыты фибрином с признаками нагноения. При выполнении КТ (Рисунок 67Б) определяется торакостома, плевральная полость тампонируется салфетками. Они были выписаны на длительное дренаженосительство при амбулаторном лечении. При динамическом наблюдении отмечается положительная динамика КТ-картины эмпиемы плевры (Рисунок 67В). Торакостома и остаточная плевральная полость уменьшились в размере. Органы средостения занимают практически всю левую плевральную полость.



Примечание – А) Интраоперационное фото; Б) КТ легких до начала терапии; В) КТ легких в динамике

Рисунок 67 – Нагноение раны и эмпиемы плевры

Четвертый вариант послеоперационного периода был использован у пациентов с нагноением послеоперационной раны в сочетании с эмпиемой плевры и наличием бронхоплеврального свища. Это была самая тяжелая группа пациентов, которая требовала длительного лечения, многочисленных санационных вмешательств, устранения БС. Всего было 2 таких пациента. Первоначально им произвели дренирование плевры с эвакуацией содержимого и ведение плевральной полости «насухо». Санацию осуществляли путем видеоторакоскопии, а также промыванием через установленный дренаж. Однако, интоксикация нарастала, что потребовало торакостомии и введения эмпиемы открытым способом. В результате последнего лечения удалось купировать острые состояния и стабилизировать состояние пациентов. В дальнейшем им произвели трансстернальную окклюзию главного бронха и торакомиопластику. Максимальный срок лечения этих пациентов составил 128 дней.

В контрольной группе после операции умерли 5 (15,6%) пациентов. Непосредственной причиной смерти были: несостоятельность культи главного бронха с последующим развитием эмпиемы, дыхательной недостаточности (1 пациент); прогрессирование пневмонии единственного легкого (n=1); сепсис, источником которого была острая эмпиема плевры (n=1); ТЭЛА на фоне послеоперационной эмпиемы и интоксикации (n=1); острый инфаркт миокарда (n=1).

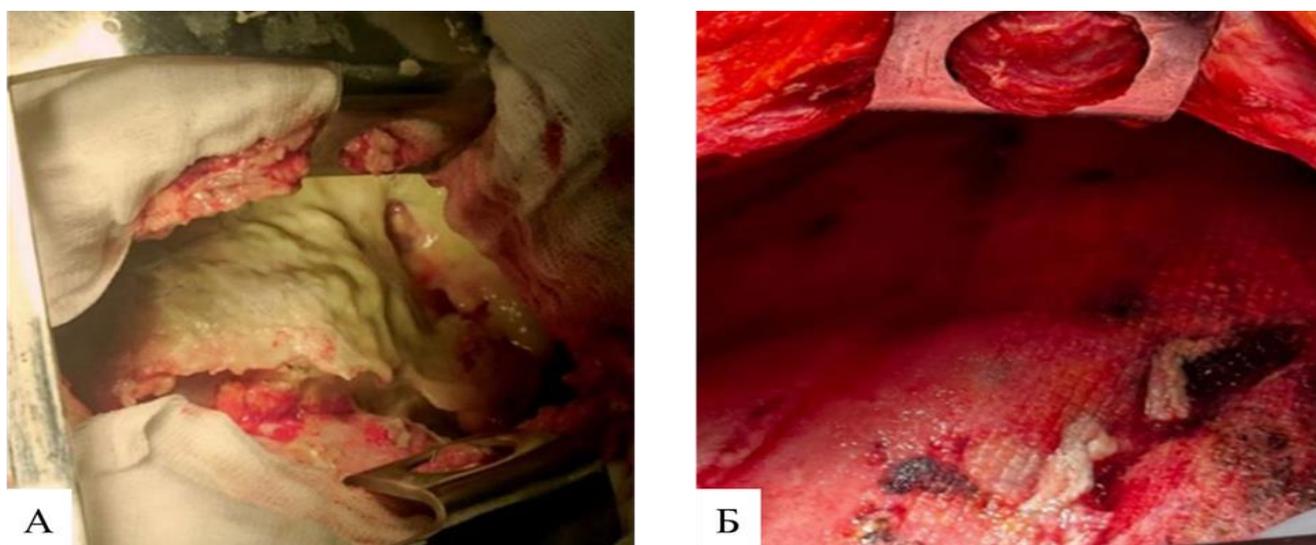
При анализе результатов лечения основной группы, где была использована методика ВАП для профилактики развития эмпиемы плевры, было выявлено, что послеоперационный период протекал более «гладко», летальных исходов не было. Средний койко-день в ней составил 16 ± 2 дней, что значительно ниже, чем в контрольной группе, $p < 0,05$. При применении ВАП фатальных аррозивных кровотечений зафиксировано не было, а также удалось быстро купировать интоксикационный синдром, очистить плевральную полость. Данная методика обеспечила повышенный комфорт и раннюю активизацию больного по сравнению с пациентами контрольной группы. Использование ВАП способствовало сохранению реберного каркаса, исключая необходимость в костных резекциях при хроническом остеомиелите ребер. В контрольной группе деструкция ребер наблюдалась у 3 из 32 пациентов, которым выполнялась торакастомия и применялись мазовые повязки (Таблица 25).

У пациентов основной группы на средостение первоначально укладывали неадгезивный сетчатый материал типа «Бранолинд», типа «АтравманАг», типа «Урго-тюль» и т.д. для профилактики прилипания губки и излишней травматизации тканей при ее смене. При плотной фиксации поролонa необходимо учитывать риск возникновения кровотечения. На сетку укладывали первый слой губки, затем дренаж. На него устанавливали второй слой губки. Им относительно туго заполняли оставшуюся плевральную полость. Между этими слоями на всем протяжении плевральной полости размещали аналогичный полихлорвиниловый гибкий дренаж, который также выводили в самой нижней точке остаточной полости. Непосредственно на края торакастомы также укладывали тонкую губку, разместив под ней еще один дренаж. Рану герметизировали традиционным способом при помощи наклейки на кожу. Дренажи соединяли через переходник в один, который подключали к отсосу с условиями разрежения до 5 см вод.ст. Перевязки (замена губки) осуществляли под внутривенным обезболиванием с интервалом в 2–3 дня. Методика заполнения плевральной полости губкой каждый раз была аналогичной таковой при первичной установке ВАП.

Малое количество наблюдений не позволило нам сформулировать свое мнение относительно необходимости фиксации губок к краям раны швами. Это

решение мы принимали в зависимости от операционной ситуации. Если губка пролабировала из торакастомической раны, то ее фиксировали. В других ситуациях от этого воздерживались, так как подобные швы могли способствовать краевому некрозу раны и остеомиелиту ребер.

Положительный эффект ВАП был оценен при последующих манипуляциях. Было показано, что ВАП обеспечивала адекватное дренирование, улучшала микроциркуляцию за счет уменьшения отека тканей. Интраоперационно были обнаружены массивные наложения фибрина на стенках плевральной полости и средостении, жидкое содержимое было гнойного характера (Рисунок 68А). Через 3 дня была выполнена первая перевязка, где уже было констатировано очищение стенок, рост грануляций, в том числе в области установленной на средостении сетки (Рисунок 68Б). Это позволило в ранние сроки восстановить целостность грудной стенки наложением вторичных швов. К данной манипуляции приступали при созревании грануляционной ткани, получении отрицательных посевов из раны и плевральной полости, а также при отсутствии системной воспалительной реакции, нормализации показателей гомеостаза.



Примечание – А) Интраоперационные фото; Б) Первая перевязка (через 3 дня)

Рисунок 68 – Лечение эмпиемы плевры с помощью ВАП

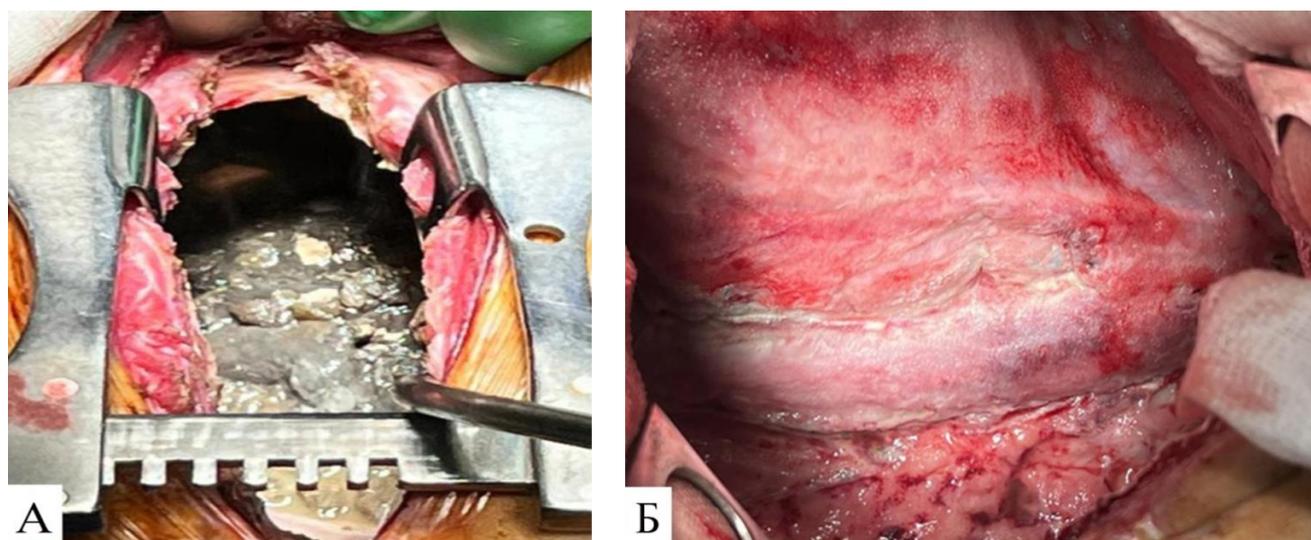
К реконструктивно-пластическому этапу переходили при достижении следующих условий: созревание грануляционной ткани, отсутствие роста

микрофлоры при посеве из раны и плевральной полости, отсутствие системной воспалительной реакции, нормализация уровня общего белка и альбумина крови.

Далее приведены несколько примеров успешного применения ВАП у пациентов повышенного риска.

Пример №1. Больному, 49 лет, по поводу гангрены левого легкого, осложненной частичной самоампутацией левого главного бронха и нижней легочной вены, легочным кровотечением с формированием эмпиемы плевры и диафрагмально-желудочного соустья, выполнили плевронеumonэктомиию с установкой ВАП (Рисунок 69).

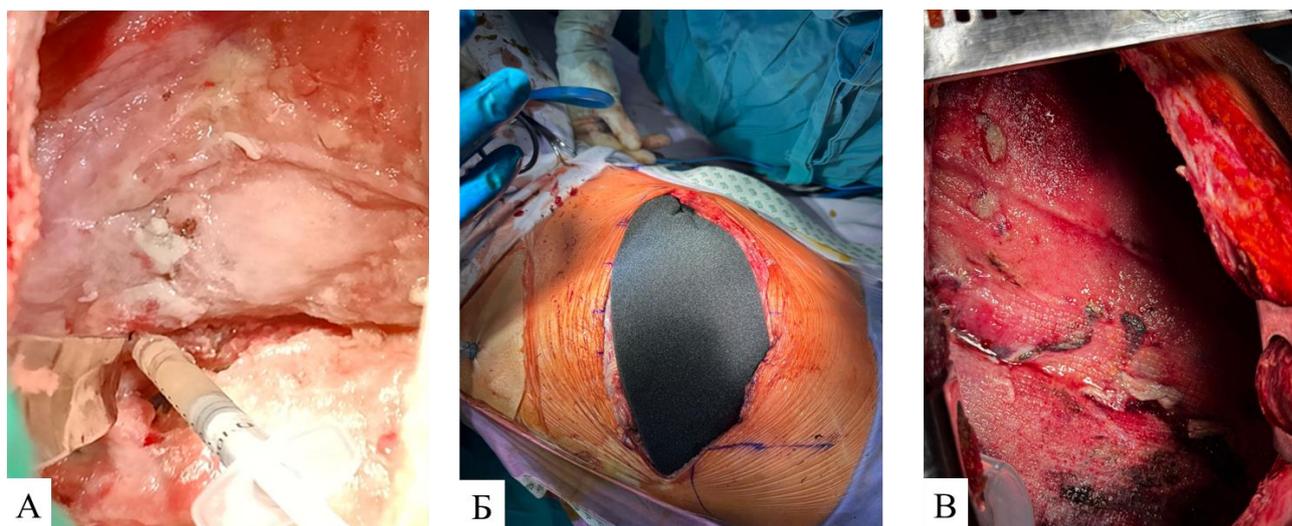
Кроме быстрого очищения плевральной полости и ликвидации эмпиемы, произошло закрытие диафрагмально-желудочного соустья. Торакотомную рану ушили с оставлением дренажа, который удалили через неделю.



Примечание – А) Торакотомия; Б) внешний вид плевральной полости и средостения после 3-х перевязок (9 сутки)

Рисунок 69 – Клинический случай №1

Пример №2. Больному 66 лет по поводу деструктивной пневмонии, осложнённой легочным кровотечением, с развитием эмпиемы плевры выполнили плевронеumonэктомиию с последующей установкой ВАП (Рисунок 70). Интраоперационно были обнаружены массивные фибриновые наслоения на стенках плевральной полости (Рисунок 70А). Через 9 дней от начала терапии очищение эмпиемы с ростом грануляций (Рисунок 70В).



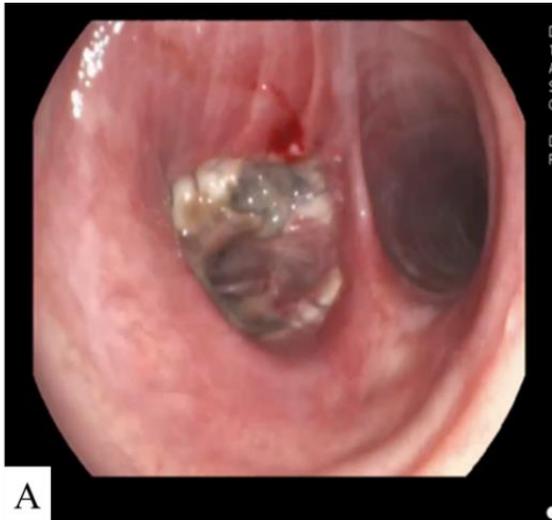
Примечание – А) Внешний вид стенок плевральной полости после плевропневмонэктомии.
 Б) Внешний вид операционной раны с установленной ВАП; В) Внешний вид плевральной полости через 9 дней

Рисунок 70 – Клинический случай №2

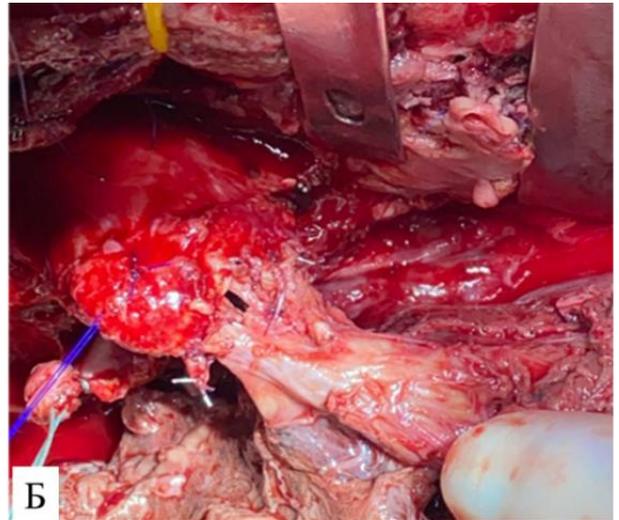
Удалось предотвратить развитие бронхоплеврального свища, а также в короткие сроки устранить эмпиему. В дальнейшем торакотомную рану ушили без применения торакомиопластики. Дренаж удалили на 4 сутки.

Пример №3. Больному, 61 год, по поводу периферического рака с централизацией выполнили верхнюю лобэктомию с резекцией главного бронха и наложением анастомоза между главным и промежуточным бронхами. Послеоперационный период осложнился несостоятельностью анастомоза и пневмотораксом. При ФБС диагностировали несостоятельность бронхиального анастомоза (Рисунок 71А). Плевральную полость дренировали и первоначально проводили консервативную терапию, заключающуюся в санации плевры, активной аспирации. Однако, полностью расправить оставшиеся две доли не удалось. Более того, возникла клиника легочного кровотечения и пациента экстренно оперировали. После реторакотомии в плевральной полости обнаружили сгустки крови на фоне эмпиемы плевры. Отдельно диагностировали перебронхиальную полость эмпиемы, а также несостоятельность бронхиального анастомоза. Кроме этого, выявили дефект нисходящей легочной артерии (Рисунок 71Б). Была выполнена временная остановка кровотечения при помощи зажима. Произвели

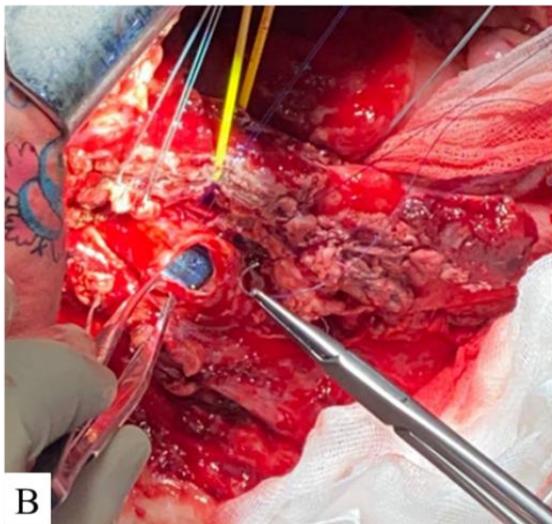
доудаление легкого по типу плевропневмонэктомии. Бронх ушили практически по всему устью (Рисунок 71В). При морфологическом исследовании обнаружили выраженные гнойно-воспалительные проявления в стенке главного бронха в виде выраженного отека и лейкоцитарной инфильтрации с тотальным тромбозом артерий и вен (Рисунок 71Г).



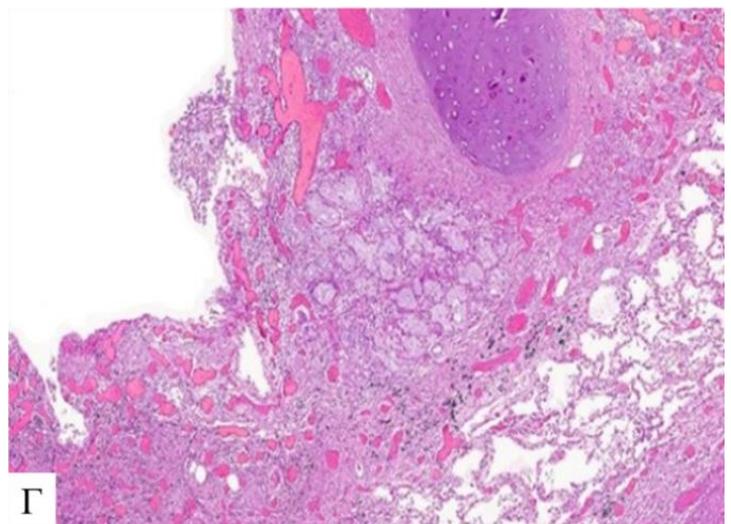
А



Б



В



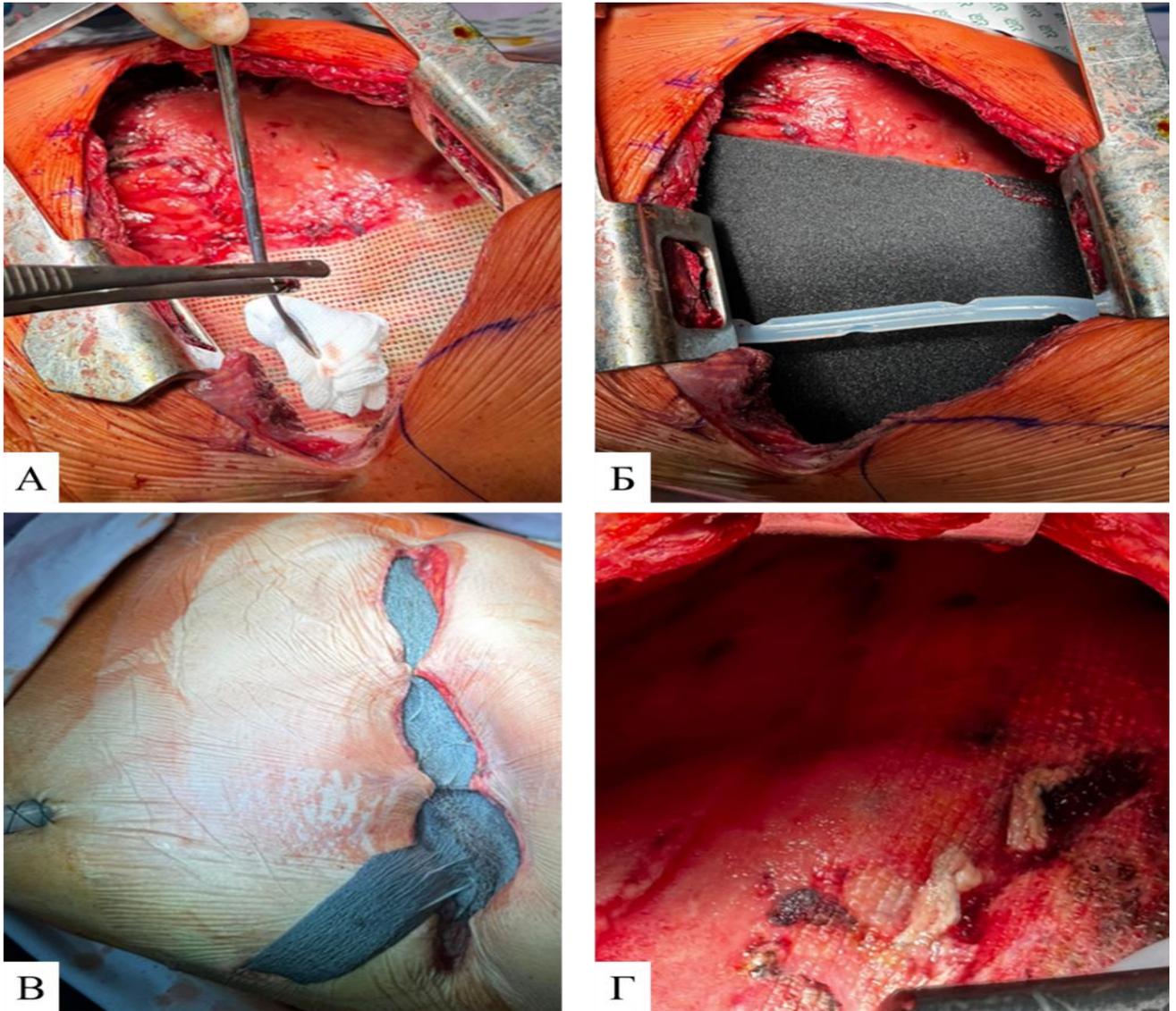
Г

Примечание – А) ФБС. Эндоскопическая картина; Б, В) Интраоперационные фото эмпиемы плевры; Г) Морфологическое исследование среза культы главного бронха на уровне доудаления. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.: 10×

Рисунок 71 – Клинический случай № 3

После удаления фибрина и некротических тканей на средостение уложили сетку (Рисунок 72А). Дополнительной ее фиксации не потребовалось. На сетку уложили первый слой поролона, а на него силиконовый дренаж, который вывели

из отдельного разреза в нижней точке плевральной полости (Рисунок 72Б). После последующего тугого тампонирувания раны слоями и аналогичного дренирования торакотомную рану свели. На кожу наложили редкие швы (Рисунок 72В). На третьей перевязке на 9-ый день после операции плевральная полость очистилась, определялся рост грануляций (Рисунок 72Г).



Примечание – А) Сетка укладывается на средостение; Б) Первый слой поролон, на нем дренаж; В) Внешний вид операционной раны. Кожа частично сведена; Г) Третья программированная реторакотомия (3-я перевязка)

Рисунок 72 – Фото этапов операций

На 3-й перевязке, через 9 дней после операции, выявили очищение плевральной полости, рост грануляций (Рисунок 72Г). Торакотомную рану ушили с оставлением одного дренажа. После динамического наблюдения при доказательстве отсутствия воспаления в плевральной полости дренаж удалили.

Данные наблюдения свидетельствуют о том, что нестандартный подход при лечении пациентов с высоким риском развития осложнений, перенесших пневмонэктомию, с использованием ВАП низкого давления позволяет эффективно и безопасно обеспечить благоприятное течение послеоперационного периода с минимальным уровнем осложнений и без летальности. Этот метод позволяет не только лечить пациентов с гнойными осложнениями после пневмонэктомии без бронхиального свища, но и эффективно профилактировать их возникновение.

При использовании вакуум-ассистированной повязки существуют определенные условия и технические особенности. Перед определением показаний к ней следует убедиться в отсутствии бронхиального свища, произвести хирургическую обработку инфицированной полости – удалить фибрин, некротические ткани и т.п. Плевральная полость должна быть герметичной, т.е. необходимо исключить утечку воздуха через бронхоплевральный свищ. Плевральную полость следует туго тампонировать поролоном, а разрезание не должно быть более 5 см вод. ст. С целью профилактики плотной фиксации губки к органам средостения, что при ее смене может спровоцировать кровотечение, медиальную стенку плевральной полости следует укрыть сеткой. Плановую смену поролона следует осуществлять 1 раз в 3 дня (процедура по типу реторакотомии). Во время подобной смены производится визуальный контроль плевральной полости, определяется степень ее очищения, а также оценивается рост грануляций. Следует выполнять и бактериологический контроль путем посева смыва со стенок плевральной полости.

Даже при создании невысокого отрицательного давления (до 5 см вод.ст.) внутри герметичной остаточной полости сохраняется риск патологической флотации органов средостения в оперированную сторону, перегиб крупных вен, прежде всего легочных вен оставшегося легкого. В этой связи требуется

достаточно туго заполнить полость губкой, а в ряде случаев ее приходится фиксировать к коже, что препятствует дислокации через торакотомный разрез. В ближайшие часы после восстановления самостоятельного дыхания после очередной перевязки показано динамическое наблюдение за гемодинамикой больного. На рисунке 73 представлен предлагаемый алгоритм лечения.



Рисунок 73 – Алгоритм ведения пациента с постпневмонэктомической эмпиемой плевры без свища главного бронха

Предложенная методика использования ВАП при купировании постпневмонической эмпиемы плевры позволила сократить сроки стадии экссудации и выздоровления, а также очищения остаточной плевральной полости. Требуется меньшее количество перевязок по сравнению с традиционным вариантом лечения (в первой группе перевязки производились до 4 раз в сутки, а во второй – 1 раз в 2–3 дня). Методика позволяет ускорить время начала второго

реконструктивного этапа лечения. ВАП – безопасный вариант лечения, при условии соблюдения основных правил наложения. Таким образом, к реконструктивно-пластическому этапу необходимо переходить при достижении следующих условий: созревание грануляционной ткани, достижение стерильности посева из раны и плевральной полости, отсутствие системной воспалительной реакции, нормализация уровня общего белка и альбумина крови.

В среднем койко-день в контрольной группе был в 2,5 раза выше, чем при использовании ВАП-терапии на фоне необходимости ежедневных многократных перевязок в стадии экссудации. Последняя продолжалась длительное время, что ухудшало качество жизни пациента и отрицательно влияло на его общее состояние. В отличие от контрольной группы в основной группе был более короткий койко-день (16 ± 2 дней). Применение ВАП позволило избежать фатальных аррозивных кровотечений, а также препятствовало формированию остеомиелита ребер. При ее использовании отсутствовала необходимость костных резекций как в контрольной группе (с применением мазевых повязок).

Резюме 6

Таким образом, результаты использования ВАП для лечения послеоперационной эмпиемы плевры без свища главного бронха доказывают эффективность и перспективность методики.

Неадекватное лечение этого послеоперационного осложнения повышает риск летального исхода, распространения воспалительного процесса на грудную стенку с формированием остеомиелита ребер, что мы наблюдали у пациентов первой группы. Подобных осложнений удалось избежать при применении вакуум-ассистированной повязки.

ВАП для устранения постпневмонэктомической эмпиемы плевры позволяет сократить сроки фаз раневого процесса, сократить сроки выздоровления и уменьшить количество койко-дней, а также сохранить расходный перевязочный материал. Методику можно использовать и с профилактической целью для лечения

пациентов с высоким риском развития осложнений.

Обязательными условиями правильной работы с вакуумными повязками являются: а) наличие постоянной активной аспирации (разряжение до 5 см вод. ст., так как плевральная полость достаточно туго заполнена губкой, то риск осложнений из-за дислокации срединных структур средостения, а также перегиб легочных вен единственного легкого минимален); б) учет физических свойств губки; в) ежедневный учет количества и качества отделяемого по дренажу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бронхиальный свищ (БС) представляет собой патологический процесс, при котором образуется сообщение между бронхиальным деревом и плевральной полостью [143]. По данным литературы вероятность возникновения БС варьируется от 2,5 до 20%, при этом смертность, связанная с БС, составляет от 18 до 71,2% [76, 155, 234]. Это состояние может привести к серьезным осложнениям, включая дыхательную недостаточность, пневмонию в оставшемся легком и эмпиему [73]. БС встречаются примерно в 1,5-12,5% случаев пневмонэктомии и около 1% процедур лобэктомии или сублобарной резекции, уровень заболеваемости колеблется в пределах 25-71% [2].

Проблема развития БС еще долгие годы будет сохранять свою актуальность, поскольку пневмонэктомия продолжает оставаться одной из основных операций при раке легкого, а также выполняется по поводу туберкулеза легких.

Несмотря на появление различных консервативных, эндоскопических, а также хирургических методик, отсутствует «золотой стандарт» лечения БС. Общая тенденция в лечении БС и эмпиемы плевры – стремление минимизировать операционную травму с максимально возможным эффектом. Открытые операции сопряжены с технически сложными и рискованными вмешательствами, не обеспечивают гарантированный успех даже при условии их выполнения опытными хирургами. Дальнейший прогресс в данной области торакальной хирургии связан с разработками новейших методик эндоскопического лечения, когда в область свища имплантируют различные конструкции, вводят химические вещества и клеточные препараты. В этой связи регенеративная медицина стала объектом, как экспериментальных, так и клинических исследований. Однако ограниченное число пациентов, а также самих исследований не позволяет сделать вывод об эффективности того или иного подхода. Ситуация усугубляется отсутствием стандартизации, применением различных клеточных конструкций, принципиально

отличных друг от друга. Недостаток универсального и действенного метода терапии требует поиска альтернативных решений.

В нашем исследовании для профилактики и лечения бронхиальных свищей была использована клеточная терапия, предпочтение было отдано культивированным фибробластам и лизату тромбоцитов для потенцирования их действия. Фибробласты участвуют в восстановлении слизистой оболочки и являются компонентами соединительной ткани. Комбинация с факторами роста, которые выделяются при получении лизата тромбоцитов из ОБТП, усиливает пролиферацию клеток. Двухкомпонентная клеточная терапия ранее не была описана ни в одном из исследований.

По мере появления новых кровеносных сосудов резидентные фибробласты пролиферируют и синтезируют белки ВКМ, такие как коллаген, фибронектин, образуя грануляционную ткань. Некоторые фибробласты дифференцируются в миофибробласты, вызывая контракцию раны. Синтезируемые фибробластами компоненты ВКМ играют важную роль в поддержании гомеостаза тканей. Помимо образования ВКМ, фибробласты продуцируют факторы роста и другие медиаторы, которые обеспечивают пролиферацию и миграцию клеток, ремоделирование матрикса. Эти события контролируют состав ВКМ, его динамическую организацию в трехмерные структуры и его биохимические свойства. Изменение экспрессии и отложения компонентов ВКМ влияет на его содержание и относительный состав, тем самым дифференцированно воздействуя на клетки [200].

Было установлено, что фибробласты стимулируют ангиогенез посредством секреции ряда медиаторов, включая VEGF, HGF, FGF-2, Ang-1, Ang-2 и IL-8 [108, 218, 227]. Раневые фибробласты также секретируют провоспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли и интерлейкины, а также хемокины СС и СХС, которые служат для привлечения нейтрофилов, моноцитов и макрофагов в пораженные участки [73, 171].

Таким образом, участие фибробластов в процессе заживления является многогранным и разнонаправленным [200]. В результате, создаются условия для формирования эпителия и завершения воспаления формированием

грануляционной ткани, что очень важно при повреждении трахеобронхиального дерева. Процесс заживления должен восстановить не только целостность бронха, но и защитную функцию за счет формирования эпителия, при этом не должна образоваться грубая рубцовая ткань.

В нашем исследовании получение клеточного препарата, одним из компонентов которого были культивированные фибробласты, проводили в специализированных условиях с соблюдением высокого уровня чистоты, так как клетки нельзя стерилизовать во время их культивирования, поэтому изначально условия работы были асептическими. Обязателен был контроль качества конечного продукта (культуры фибробластов), чтобы при его применении избежать возможных побочных эффектов, в том числе образования грубой рубцовой ткани. Лаборатории, которая изготавливала клеточный препарат, соответствовала всем необходимым требованиям и обеспечивала контроль качества готового продукта.

Для приготовления клеточного препарата могут быть использованы как аутологичные, так и аллогенные фибробласты. Преимущество аутологичных клеток заключается в том, что ускоряется процесс заживления раны за счет сокращения времени необходимого клеткам-хозяевам для проникновения в рану и раннего синтеза новой ткани [160]. Но у истощенных и возрастных пациентов с тяжелой соматической патологией не всегда возможно получить достаточное количество культивированных клеток. Помимо этого, наличие онкопатологии несет в себе риск трансформации клеток [252]. Поэтому нами были выбраны фибробласты, получаемые от аллогенного донора. Клеточная терапия с использованием аллогенных клеток также имеет терапевтическое значение в заживлении ран посредством ускорения эпителизации от краев раны, что способствует образованию грануляционной ткани [90, 252].

Другим компонентом был выбран лизат тромбоцитов, получаемый из собственной крови пациента, путем криодеструкции обогащенной тромбоцитами плазмы. В результате этого процесса происходит разрушение тромбоцитов и выброс разных медиаторов из их α -гранул, которые обладают многофакторным действием [83, 101, 236]. Эти факторы в области повреждения влияют на клетки,

что приводит к изменениям в пролиферации, дифференцировке, синтезе белка и хемотаксисе [219]. Однако поскольку эффект этих медиаторов является кратковременным, было принято решение использовать лизат тромбоцитов в дополнении к первому компоненту.

При разработке инновационных способов терапии и их доклиническом апробировании необходимо правильно выбрать экспериментальную модель, так как от этого зависит достоверность и дальнейшее транслирование полученных результатов в клинику. Использование нечеловекообразных приматов в доклинических исследованиях является мощным инструментом трансляционной медицины благодаря их филогенетической и функциональной близости к человеку [158]. Поэтому основываясь на том, что приматы демонстрируют высокую степень гомологии с человеком в строении и физиологии дыхательной системы, именно они были выбраны в качестве экспериментальной модели.

Оперативное вмешательство на приматах проводилось с воссозданием активного анестезиологического пособия. Все животные находились на карантине перед включением в эксперимент. Всего в исследование было включено 22 особи мужского пола, которые случайным образом были распределены на группы. В послеоперационном периоде их содержали в индивидуальных клетках. В зависимости от срока наблюдения регулярно выполняли оценку физиологического состояния животного. Вне зависимости от сроков наблюдения, самочувствие животных было удовлетворительное, послеоперационных осложнений, включая летальных исходов, не наблюдалось. Проведенный сравнительный анализ морфодинамики заживления ткани трахеи / бронха выявил различия в скорости восстановления в опытной и контрольной группах. Параллельно, по результатам анализа медиаторов, который проводился в разные дни наблюдения, были выявлены определенные особенности.

Результаты, полученные на 3-и сутки после оперативного вмешательства в обеих экспериментальных группах соответствовали острой фазе воспаления и характеризовались типичной морфологической картиной, более выраженной в группе контроля. Однако дальнейшее наблюдения выявило различия между

группами. Если в контрольной группе на 7-е сутки морфологические изменения соответствовали фазе воспаления с выраженными инфильтративными процессами, то в опытной группе были отмечены признаки формирования рыхлой грануляционной ткани, снижение инфильтрации, сосудистой реакции, при этом было обнаружено формирование эпителиальной ткани с краев раны, что соответствовало усилению пролиферации тканеспецифичных клеток и образованию ВКМ. Тканевая динамика соотносилась с системными изменениями: увеличение PDGF в 2 раза по сравнению контрольной группой и в 1,5 раза по сравнению с исходным уровнем: 448,5 [235,1; 2302] пг/мл против 204,1 [36,65; 2096] пг/мл и 297,4 [138; 523,1] пг/мл, соответственно. VEGF был увеличен в 2 раза, 7,50 [3,27; 9,62] пг/мл, по сравнению с контрольной группой, где его уровень составил 3,82 [2,47; 7,19] пг/мл. Было отмечено более раннее увеличение FGF, IL-4, при этом маркеры тканевого ремоделирования, матриксные металлопротеиназы, демонстрировали длительное увеличение концентраций, что указывала на процессы фиброобразования. Примечательно было обнаружение скопления клеток в месте введения, которые не были элементами воспаления, так как не экспрессировали специфические маркеры моноцитарно-макрофагального и гранулоцитарного ряда. При этом они обладали выраженной пролиферативной активностью, так как доля ki-67± позитивных клеток достигала 90%. Они не были окружены капсулой, не было выявлено нарушение микроциркуляции. Нами был сделан вывод, что обнаруженные клетки соответствуют введенным клеткам и обладают биологической совместимостью с тканями трахеобронхиального дерева, не вызывают токсичных реакций и сохраняют функциональную активность, стимулируя пролиферацию клеток. В нашей работе клетки не были мечены, что не позволяет сделать вывод о том, какие именно клетки во введенной области пролиферируют: экзогенные или эндогенно привлеченные. О судьбе клеток, вводимых в место повреждения, рассказано в работе E. Roessner [126, 245]. Ими было обнаружено, что меченные tomato± фибробласты мигрируют из ацеллюлярного дермального матрикса, которым был укрыт бронхиальный анастомоз. На основании того, что меченные клетки расположены в зоне

повреждения бронха, исследователи предположили, что мигрировавшие фибробласты были локально сконцентрированы вокруг области анастомоза. Несмотря на то, что трансплантированные меченные клетки составляли меньшинство от общего числа клеток, присутствующих в матриксе и бронхе, они были способны размножаться с 7-го по 14-й день как в матриксе, так и в бронхе [245]. В нашем исследовании были похожие результаты, так как найденные клетки в зоне введения также обладали высокой пролиферативной активностью в период с 7-х по 14-е сутки.

Дальнейшее наблюдение позволило сделать вывод о том, что применение клеточного препарата способствует формированию грануляционной ткани без фиброобразования, восстановлению многорядного мерцательного эпителия уже к 14-м суткам. В то время как в контрольной группе полное заживление и восстановление дыхательного эпителия было зафиксировано на 21-е сутки, при этом была сформирована плотная волокнистая ткань. Полученные результаты указывают на положительное воздействие клеточного препарата: стимуляцию регенеративных процессов, отсутствие токсичных реакций, биологическую совместимость клеточного препарата с тканью бронха и трахеи.

Результата через 3 и 6 месяцев наблюдения опытной группы не выявили никаких патологических реакций ни клинически, ни морфологически.

Помимо морфологического анализа был выполнен сравнительный анализ динамики медиаторов в периферической крови. Нами были рассмотрены факторы роста, провоспалительные и противовоспалительные цитокины, а также металлопротеиназы. Были выявлены статистически значимые изменения PDGF, увеличение уровня VEGF, FGF, IL-4, IL-6, IL-10, MMP-2, MMP-9. По данным литературы, существует несколько механизмов, с помощью которых фибробласты могут оказывать положительный эффект на заживление ран. Системное воспаление и цитокины опосредуют локальные воспалительные реакции, которые могут взаимодействовать с локальными фибробластами [167]. Фибробласты способны продуцировать ВКМ, привлекать клетки, которые участвуют в заживлении ран, а также индуцировать ангиогенез, путем секреции важных факторов роста, таких как

трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), FGF, VEGF и PDGF-BB [245]. Обнаруженные изменения в виде роста концентрации медиаторов в периферической крови в период с 3-их по 14-е сутки соответствуют данным, описанным в литературе, и также отражают процессы стимуляции заживления.

Следует отметить, что в экспериментальной работе не выполнялось локальное исследование медиаторов из трахеобронхиального дерева, что было сделано в клиническом разделе. Тем не менее, полученные результаты морфологического исследования и лабораторного анализа свидетельствуют о влиянии клеточного препарата на раневые процессы за счет стимуляции заживления и доказывают его биологическую совместимость с тканями трахеи и бронха. На основании этого были выполнены клинические исследования.

Для определения способа введения проводился обзор литературы, согласно которой в большинстве случаев использовался эндоскопический способ введения, так как он менее травматичен по сравнению с оперативным вмешательством. Перед выполнением инъекции клеточного препарата проводилась некрэктомия краев раны.

Во-первых, это стимулировало микроциркуляцию механическим воздействием, а во-вторых, введение клеток в некротизированную считалось нецелесообразным.

После определения способа применения клеточного препарата было решено проводить манипуляции многократно для увеличения эффективности, максимально до 5 раз. При заживлении БС раньше срока окончания введения, терапию прекращали. Поэтому среднее количество введений составило 3,8 раз. Все пациенты в исследовании были рандомизированы на 2 группы: основную и контрольную. Обе группы были сопоставимы по полу, возрасту, исходному заболеванию, наличию сопутствующей патологии. В обеих группах выполняли как пневмонэктомию в разном объеме, так и лобэктомию. Способы наложения шовного материала в обеих группах были аналогичными. Не было выявлено отличий между сторонами оперативного вмешательства, после которых развился БС. Также как в

контрольной, так и в основной группе операции справа и слева проводились одинаково часто, $p > 0,05$.

По данным литературы, наиболее часто БС возникают после правосторонних оперативных вмешательств [76, 133, 155]. В нашей работе, операции с обеих сторон проводились практически равнозначно: 29 (51%) справа против 18 (53%) слева в основной группе и 28 (49%) против 16 (47%), соответственно, в контрольной группе. Основное время манифестации БС было в пределах 1 месяца после оперативного вмешательства. Клеточный препарат вводился в БС разного размера, в большинстве случаев размеры составляли от 2 до 10 мм. Также была диагностирована полная несостоятельность бронхиального анастомоза в 9 случаях.

Принципиальным отличием в группах данные по эффективности терапии и летальность. Если в контрольной группе БС зажил у 50% человек, что в большинстве случаев было обусловлено повторной операцией, то в основной группе у 93% пациентов клеточная терапия была эффективна, в основном не требовалось проведение повторного вмешательства (исключение 1 случай), $p < 0,0001$. Летальность отсутствовала в основной группе и составила 35,3% в контрольной группе, $p < 0,0001$.

Полученные данные подтверждали терапевтическую эффективность разработанного способа терапии БС на основе клеточного препарата. Для профилактики послеоперационных осложнений клеточный препарат вводили интраоперационно однократно после основного этапа. Культю бронха обкалывали со стороны слизистой оболочки, после чего ушивали и заканчивали оперативное вмешательство.

Критерием эффективности профилактики данного метода воздействия стала оценка возникновения несостоятельности бронхиального анастомоза в послеоперационном периоде. На протяжении всего периода наблюдения не было зафиксировано ни одного БС. Для профилактики послеоперационных осложнений применяют разные методы, в основном, укрытие васкуляризированной тканью [12, 20, 33]. Предложенный нами способ не был описан ранее. Как правило, в

литературных источниках представлены единичные клинические результаты или серии случаев лечения БС с помощью клеточных технологий [30, 57, 79, 86, 87].

Интересными были результаты оценки биологической совместимости клеточного препарата на ткани бронха и его влияния на раневые процессы, полученные с помощью регулярного морфологического анализа биоптатов ткани из места повреждения и лабораторного анализа смывов из этой области. В клинической группе также как и в экспериментальной, отмечалось ускорение процессов регенерации.

Заживление ран представляет собой упорядоченный процесс, включающий воспаление, пролиферацию клеток и ремоделирование внеклеточного матрикса. В этом процессе участвуют различные факторы роста, и он точно контролируется сложными взаимодействиями между ними [94]. При использовании клеточного препарата в экспериментальной части нами было обнаружено, что стадии заживления не нарушаются, но длительность воспаления уменьшается, при этом время пролиферация и ремоделирование наступают раньше.

При анализе клинических данных были получены схожие результаты. Гистологически это проявлялось образованием рыхлой соединительной ткани и формированием мерцательного эпителия в более ранние сроки, чем в контрольной группе, 7–8-е сутки против 14-х суток, соответственно.

Изменения локального уровня медиаторов были более выражены по сравнению с динамикой в периферической крови, что можно объяснить их непосредственным воздействием на микроокружение в зоне повреждения. В нашем исследовании мы обнаружили статистически значимое локальное увеличение концентрации PDGF на 3-и сутки. Молекулярные механизмы этого фактора роста уже были тщательно изучены. На ранней стадии восстановления тканей PDGF химически привлекает фибробласты в область раны, играет вместе с другими медиаторами ключевую роль в активации мезенхимальных стволовых клеток и фибробластов, а также в привлечении и активации нейтрофилов и макрофагов [156].

В фазе пролиферации и ремоделирования важную роль начинают играть VEGF и FGF. VEGF может стимулировать ангиогенез и способствовать миграции

и пролиферации эндотелиальных клеток [110]. Статистически значимая разница между группами была выявлена при изучении динамики FGF. Его концентрация также повышалась по сравнению с контрольной группой на 3-и сутки в смывах в 3 раза, $p < 0,0001$. Помимо этого, было зафиксировано ранее повышение на 3-и сутки концентрации VEGF. Благодаря такому бустерному эффекту факторов роста, наблюдалась гистологически подтвержденная стимуляция пролиферации клеток, а также образование рыхлой волокнистой ткани уже к 7–8-м суткам. Также это свидетельствует об эффективности применения клеточного препарата.

Умеренное воспаление необходимо для процесса заживления ран, и характеризуется выработкой провоспалительных факторов, включая цитокины IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α и ряд других, которые запускают многочисленные иммунные реакции в зоне повреждения. В контрольной группе концентрация медиаторов была существенно выше, что характерно для выраженного воспаления и подтверждалось гистологически. В основной группе динамика медиаторов воспаления была слабо выражена, и в последующем их концентрации постепенно снижались.

В группе при интраоперационном анализе также были отмечены более ранние повышения концентраций факторов роста. Изучая маркеры тканевого ремоделирования, MMP-2 и MMP-9, их концентрации были максимально повышены к 5–7 суткам, по сравнению с исходным уровнем. При сравнении с экспериментальными данными повышение матриксных металлопротеиназ было кратковременным.

Нами были выявлены корреляционные связи между MMP-2, MMP-9, FGF. Увеличение активности MMP содействует правильному ремоделированию тканей и восстановлению гомеостаза тканей [115]. Синтез MMP является клеточно- и тканеспецифичным процессом и регулируется как клетками иммунной системы, так и стромальными клетками. Показано, что функции MMP зависят от контекста ткани и заболевания и оказывают как про-, так и антифиброзное действие. [144]. В нашем исследовании существенного повышения концентрации MMP не наблюдалось, но учитывая, что была обнаружена связь с FGF, можно

предположить, что наблюдаемые изменения оказывают положительное влияние на образование соединительной ткани, и не способствуют фиброзированию. Данные были соотнесены как с экспериментальными результатами, так и с морфологическим анализом. В целом, полученные результаты подтвердили биологическую совместимость клеточного препарата, и стимуляцию фаз заживления при его применении.

В работе Zhao R. et al. был проведен мета-анализ клинических исследований, где применялись клеточные технологии для лечения острых и хронических заболеваний дыхательной системы [205]. Авторы пришли к выводу, что введение мезенхимальных стволовых или прогениторных клеток, как внутривенно, так и локально, хорошо переносятся без серьезных побочных эффектов, опосредованных клеточной терапией. Не было выявлено связи со значительными изменениями в спирометрии, иммунной функции, сердечно-сосудистой активности и качестве жизни. Полученные нами данные также доказывают переносимость клеточного препарата.

При изучении прогрессирования онкологического процесса в периоде от 6 месяцев до 5 лет, не было выявлено увеличения риска этого нежелательного явления. Таким образом, мы сделали заключение о безопасности клеточного препарата.

В нашей работе был проведен поиск способа профилактики развития эмпиемы плевры после резекции легкого. Нами был апробирован способ, заключающийся в наложении ВАП, для профилактики и купирования постпневмонэктомической эмпиемы плевры. Несмотря на то, что в гнойной хирургии ВАП широко используется в гнойной торакальной хирургии для лечения эмпиемы плевры, она была применена впервые.

Выработанный нами алгоритм действий позволил добиться положительных результатов и показал воспроизводимость предложенной методики. Технология наложения ВАП может быть использована в любом центре, осуществляющем активные хирургические вмешательства на грудной клетке.

На основании проведенного нами исследования можно сделать вывод, что использование аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов при наличии БС способствует стимуляции регенерации зоны повреждения, а при интраоперационном введении, является эффективным методом профилактики развития несостоятельности бронхиального анастомоза.

Полученные данные позволяют улучшить показатели эффективности лечения пациентов с бронхиальными свищами, и как следствие, сократить количество койко-дней у данной категории пациентов, снизить развитие других осложнений и общую летальность. Кроме того, полученные результаты дают возможность продолжать клинические исследования в данном направлении с последующим более широким внедрением в лечебный процесс предложенных методов.

Выводы

1. Для лечения и профилактики бронхиальных свищей был использован клеточный препарат на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов. Аллогенные фибробласты, полученные *in vitro* и введенные в место повреждения, секретируют различные цитокины и факторы роста, продуцируют компоненты внеклеточного матрикса, что приводит к стимуляции пролиферации эпителия, ангиогенеза и образованию соединительной ткани. Второй компонент, аутологичный лизат тромбоцитов, потенцирует действие фибробластов и стимулирует заживление поврежденной ткани.

2. Созданная экспериментальная модель на крупном животном позволяет изучить особенности заживления бронхиального и трахеального швов после оперативного вмешательства. Проведенные исследования на 22 половозрелых приматах мужского пола показали, что объем операции, а также применение клеточного препарата патологически не влияют на течение послеоперационного периода. Все животные выводились из эксперимента согласно установленному графику. Нежелательных явлений и преждевременных летальных исходов зафиксировано не было.

3. Сравнительный морфологический анализ динамики раневых процессов показал стимуляцию процессов заживления в опытной группе. На 7-е сутки в опытной группе выявлены признаки активации пролиферативной фазы заживления, а также снижение выраженности инфильтративных процессов по сравнению с контрольной группой. Клеточный препарат обладал биологической совместимостью с тканью бронха и трахеи, в месте введения препарата фибробласты пролиферировали (90% Ki67-позитивных клеток), отсутствовали признаки патологических реакций в виде образования гранулемы, нарушения микроциркуляции.

4. Сравнительный количественный иммуноферментный анализ медиаторов в сыворотке крови приматов выявил более раннюю активацию синтеза

факторов роста, противовоспалительных цитокинов и металлопротеиназ. Концентрации VEGF, PDGF, FGF, IL-6, IL-10 увеличивались, начиная с 3-их суток наблюдения, с максимальным повышением в период 7–14 суток.

5. Была доказана клиническая эффективность применения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов для лечения бронхиальных свищей. Из 57 человек, получивших предложенную терапию, положительный эффект наблюдался в 54 случаях (94,7%). В группе контроля эффективность стандартных методов лечения составила 50% (17 из 34), $p < 0,05$. В основной группе не было зафиксировано нежелательных явлений и летальных исходов.

6. Было показано, что клеточный препарат стимулирует заживление повреждений стенки трахеи и бронха, что доказано на основании локального увеличения концентрации факторов роста (PDGF, VEGF, FGF) и противовоспалительных цитокинов (IL-10, IL-6), начиная с 3-х суток. Повышение уровней MMP свидетельствует о начале процессов тканевого ремоделирования, активность которых была максимальной к 7-м суткам. Прямая корреляционная связь между увеличением FGF и MMP-2 ($r=0,873$), $p=0,001$; FGF и MMP-9 ($r=0,623$, $p < 0,05$); FGF и IL-10 ($r=0,682$, $p < 0,05$) подтверждает стимуляцию процессов образования соединительной ткани и тканевого ремоделирования.

7. Применение клеточного препарата безопасно и эффективно для профилактики бронхиальных пострезекционных осложнений. Ни у одного пациента, несмотря на характер заболевания, тяжесть состояния и сложность оперативного вмешательства, в послеоперационном периоде не было осложнений со стороны культуры бронха или остаточной плевральной полости.

8. Применение суспензии аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов безопасно у онкологических пациентов. Это не влияло на прогрессирование рака легкого в течение 5 лет, которое произошло у 23,9% пациентов, что меньше, чем у пациентов, не получавших клеточную терапию – у 36,3%, соответственно, $p < 0,05$.

9. Вакуум-ассистированная повязка показана для профилактики и лечения возникновения постпневмонэктомической эмпиемы плевры. Ее применение безопасно при внутривидеальном использовании у пациентов групп высокого риска по развитию несостоятельности культи бронха. Было показано, что применение ВАП приводит к снижению койко-дней в 2,5 раза по сравнению с группой контроля, $p < 0,05$.

10. Разработан и обоснован протокол персонализированной профилактики и лечения пострезекционных бронхиальных свищей с применением клеточного препарата, позволяющий начинать терапию в максимально ранние сроки после выявления бронхиального свища. Определены условия применения клеточного препарата для профилактических целей.

Практические рекомендации

1. Для получения клеточного препарата необходимо использовать аллогенные фибробласты в количестве 6 млн. клеток в 2 мл в 0,9% физиологическом растворе NaCl и лизат тромбоцитов объемом 2 мл. Для приготовления взвеси фибробластов используют прошедшие контроль качества аллогенные клетки из биобанка, которые размораживают при специальном режиме. Для получения лизата тромбоцитов сначала готовят плазму, обогащенную тромбоцитами, после чего тромбоциты подвергают разрушению с помощью цикла заморозки-разморозки. Все манипуляции с компонентами клеточного препарата необходимо проводить в стерильных условиях.

2. Созданная на крупном животном (приматы) экспериментальная модель заживления повреждений трахеи и бронхов, наиболее близкая к организму человека, может быть использована для дальнейшего изучения тканевых и системных реакций при использовании инновационных клеточных препаратов.

3. Разработанный протокол персонализированного лечения бронхиальных свищей разного размера основан на эндоскопическом введении клеточного препарата, состоящего из суспензии аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов, и может быть широко использован в клинической практике.

4. Применение клеточного препарата следует начинать максимально рано, на 1-2-е сутки с момента выявления бронхиальных свищей и обязательно после некрэктомии, удаления лигатур. Его введение предпочтительно осуществлять эндоскопически через просвет трахеобронхиального дерева по периметру свища в подслизистый слой, отступив 1–2 мм от края дефекта на глубину 1 мм на одинаковом расстоянии друг от друга. Процедуру можно повторять многократно, рекомендовано до 5 раз.

5. Использование клеточного препарата безопасно, хорошо переносится пациентами и оказывает не только местный положительный эффект, но и активизирует регенеративные возможности всего организма, что подтверждено соответствующими лабораторными исследованиями.

6. Использование суспензии аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов не влияет на течение онкологического процесса и безопасно для пациентов с раком легкого, при котором наиболее часто выполняют пневмонэктомию. Введение клеточного препарата возможно в онкологическом учреждении с его дистанционным приготовлением в специализированной клеточной лаборатории и последующей транспортировкой в установленный срок.

7. Лечение послеоперационной эмпиемы плевры и устранение бронхиальных свищей – взаимосвязанные процессы. Очередность определяется индивидуально в каждом конкретном случае. Предпочтение следует отдавать первичной санации плевральной полости с последующим применением различных вариантов устранения бронхиальных свищей. При малых сроках после манифестации несостоятельности трахеобронхиального дерева целесообразно

сочетание консервативного лечения (дренирования и санации) плевры с введением клеточного препарата в зону дефекта трахеи или бронха.

8. Торакостомия с последующим наложением вакуум-ассистированной повязки на остаточную плевральную полость может использоваться в отделениях торакальной хирургии. Она позволяет в максимально ранние сроки купировать эмпиему по сравнению с традиционными вариантами лечения данного осложнения.

9. Вакуум-ассистированную повязку можно использовать с профилактической целью после пневмонэктомии при повышенном риске развития эмпиемы плевры у пациентов, для которых характерны общее тяжелое состояние, выраженная интоксикация и обострение сопутствующих заболеваний, несмотря на интенсивную и многокомпонентную терапию в периоперационном периоде.

10. Обязательными условиями правильной работы с вакуумными повязками являются: а) наличие постоянной активной аспирации (разряжение до 5 см вод. ст. Так как плевральная полость достаточно туго заполнена губкой, то риск осложнений из-за дислокации срединных структур средостения, а также перегиб легочных вен единственного легкого минимален); б) учет физических свойств губки; в) ежедневный учет количества и качества отделяемого по дренажу.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АПС – альвеоло-плевральный свищ

БМ – базальная мембрана

БС – бронхиальный свищ

ВАП – вакуум-ассистированная повязка

ВКМ – внеклеточный матрикс

ГБ – главный бронх

ДЛТ – дистанционная лучевая терапия

ДМПП – дефект межпредсердной перегородки

ЖТ – жировая ткань

ИБС – ишемическая болезнь сердца

КТБ – компьютерная томография-бронхография

ЛТ – лизат тромбоцитов

МСК ЖТ – мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани

МСК КМ – мезенхимальные стволовые клетки костного мозга

НМКРЛ – немелкоклеточный рак легкого

ОбТП – обогащенная тромбоцитами плазма

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ПГБ – правый главный бронх

ПК – периферическая кровь

ПХТ – полихимиотерапия

СВФ – стромально-васкулярная фракция

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

УКБ – ушиватель культи бронха

УКЛ – ушиватель корня легкого

ФБС – фибробронхоскопия

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

ЭКГ – электрокардиограмма

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

ЭНБЛ – эндобронхиальный назальный бронхолаваж

EGF – эпидермальный фактор роста

FDA – Food and Drug Administration, букв. «Управление еды и лекарств» – агентство Министерства здравоохранения и социальных служб США, один из федеральных исполнительных департаментов.

FGF – Фактор роста фибробластов

GCP – надлежащая клиническая практика (Good Clinical Practice)

HGF – фактор роста гепатоцитов

ILGF – инсулиноподобный фактор роста

MMP – матриксная металлопротеиназа.

PDGF – тромбоцитарный фактор роста

TNM – международная классификация стадий злокачественных новообразований

TNF α – фактора некроза опухолей- α

VEGF – васкулоэндотелиальный фактор роста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абсцесс и гангрена легкого: эволюция методов лечения / О. О. Ясногородский, В. К. Гостищев, А. М. Шулушко [и др.]. // Новости хирургии. – 2020. – №2. – С. 150–158. <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2020.2.150>.
2. Аксарин, А. А. Несостоятельность швов культи бронха в хирургии рака легкого / А. А. Аксарин, М. Д Тер-Ованесов // Хирургия – 2014. – №9. – С. 33–36.
3. Берестецкий, Р. Е. Экспериментальные данные о влиянии нарушения бронхиального кровоснабжения на течение межбронхиального анастомоза: учебное пособие. – Свердловск: Вопросы пульмонологии, 1968. – С. 147–156.
4. Бронхо- и ангиопластическая лобэктомия как альтернатива пневмонэктомии в лечении немелкоклеточного рака легкого / А. В. Решетов, А. В. Елькин, Г. В. Николаев [и др.]. // Вестн. хир. – 2018. – Т. 177, №3. – С. 19-24. <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2018-177-3-19-24>.
5. Бронхоскопия в диагностике и лечении органов дыхания / Г. Ф. Паламарчук, А. Л. Акопов, А. И. Арсеньев [и др.]. // Монография. – СПб: Фолиант, 2019. – 328 с.
6. Винокуров, И. И. Сравнительный анализ различных методов повторной ампутации культи главного бронха / И. И. Винокуров, А. Ф. Кравченко // Предупреждение распространения туберкулезной инфекции в циркумполярных регионах России. Актуальные проблемы сочетанных инфекций (ВИЧ/ТБ/Гепатиты): сборник трудов / Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова Медицинский институт, Министерство здравоохранения Республики Саха (Якутия). Государственное бюджетное учреждение Республики Саха (Якутия) научно-практический центр «Фтизиатрия»; [главный редактор А. Ф. Кравченко]. – 2018.– С. 27–29.
7. Возможности клеточной терапии в торакальной хирургии / И. С. Поляков, В. А. Порханов, А. Л. Коваленко [и др.]. // Учёные записки Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени

академика И. П. Павлова. – 2023. – Т. 30, № 1. – С. 27–36. <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2023-30-1-27-36>.

8. Гагуа, Р. О., Факторы, влияющие на нарушение герметизма культи бронха, при хирургическом лечении рака легкого / Р. О. Гагуа, А. Н. Кебадзе, В. О. Кучава. // Советская медицина. – 1990. – № 9. – С. 48–51.

9. Горелов, Ф. И. Лечение хронической эмпиемы плевры после пневмонэктомии герметическими пункциями / Ф. И. Горелов, Е. И. Ходько // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 1998. – №3. – С. 47–50.

10. Давыдов, М. И. Рак легкого: учебное пособие / М. И. Давыдов, Б. Е. Полоцкий. – М.: Радикс, 1994. – 206 с.

11. Душко, Н. Е. Лечение постпневмонэктомических бронхиальных свищей в торакальной онкохирургии: обзор литературы и собственный опыт / Н. Е. Душко // Клиническая онкология – 2015. – Т. 2, № 18. – С. 7–13.

12. Использование диафрагмального лоскута для укрепления культи главного бронха при правосторонней пневмонэктомии у больных деструктивным туберкулезом легких с лекарственной устойчивостью микобактерий туберкулеза / А. О. Аветисян, И. С. Серезвин, Г. Г., Кудряшов [и др.] // Вестник хирургии. – 2022. – Т. 181, №2. – С. 16–23. <https://doi.org/10.24884/0042-4625-2022-181-2-16-23>.

13. Карпюк, В. Б. К изучению свежесыводенных аутологичных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки для регенерации биологических тканей / В. Б. Карпюк, М. Д. Перова, М. Г. Шубич // Институт стоматологии. – 2009. – Т. 44, № 3. – С. 74–76.

14. Кесаев, О. Ш. Хирургическое лечение бронхоплевральных осложнений после пневмонэктомий: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / О.Ш. Кесаев. – Москва, 2014. – 125 с.

15. Клеточные технологии в лечении бронхиальных свищей / В. И. Егоров, П. М. Ионов, Ю. В. Юркевич [и др.]. // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. – 2015. – Т.10, № 2. – С. 707–708.

16. Культура мезенхимальных стволовых клеток лабораторных приматов и перспективы их использования в экспериментальной медицине / В. З. Агрба, Б. А. Лапин, В. А. Порханов [и др.] // Стволовые клетки и регенеративная

медицина: Сборник статей / Под ред. Ткачука В.А. – М.: МАКС Пресс. – 2012. – С. 23–30.

17. Левченко, Н. Е. Бронхопластические оперативные вмешательства в хирургии рака легкого / Н. Е. Левченко, Е. В. Левченко, С. М. Ергян // Вопросы онкологии. – 2016. – Т. 62, № 5. – С. 588–595.

18. Лечение бронхиальных свищей. Выход найден? Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова // А. В. Баженов, А. С. Цвиренко [и др.]. – 2018. – Т. 3, № 2. – С. 33–38. <https://doi.org/10.17116/hirurgia20183233-38>.

19. Лечение несостоятельности швов колоректального анастомоза: возможно ли сохранить анастомоз? / Ф. Ш. Ахметзянов, В. И. Егоров, А. И. Валеев [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 92 – 98. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-1-92-98>.

20. Лищенко, В. В. Профилактика несостоятельности культи бронха и бронхиальных свищей после пневмонэктомии / В. В. Лищенко, С. Н. Шнитко // Вестник хирургии. – 2011. – № 1. – С. 68–72.

21. Методы закрытия культи бронха после анатомических резекций легких / В. В. Бармин, О. В. Пикин, А. Б. Рябов [и др.]. // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2018. – Т. 7, № 4. – С. 58–63. <https://doi.org/10.17116/onkolog20187458>.

22. Мотус, И. Я. Бронхиальные свищи после пневмонэктомии при раке легкого. Хирургия / И. Я. Мотус, А. В. Баженов // Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2015. – Т. 8, № 2. – С. 33–38. <https://doi.org/10.17116/hirurgia20158233-38>.

23. Напряженный пневмоперикард как осложнение трансстеральной трансперикардиальной окклюзии главного бронха / Д. Б. Гиллер, И. И. Мартель, А. Б. Бижанов [и др.]. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2018. – № 6. – С. 106–108. <https://doi.org/10.17116/hirurgia20186106-108>.

24. О диагностике и лечении эмпиемы плевры / Р. А. Хасанов, Д. С. Мирзакулов, Р. К. Калматов [и др.]. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – Т. 8, № 1. – С. 83–88.

25. Оментопластика как метод профилактики и лечения несостоятельности культи правого главного бронха и трахеобронхиального (трахеотрахеального)

анастомоза / П.К. Яблонский, И.В. Мосин, А. Б. Сангинов [и др.]. // Вестник Авиценны. – 2014. – Т. 2, № 59. С. 25–29. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2014-16-2-25-29>.

26. Операции на главных бронхах через полость перикарда / Л. К. Богуш, А. А.Травин, Ю. Л. Семенов [и др.]. – Москва: Медицина, 1972. – С. 30–35.

27. Оптимизация диагностики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний (Инновационные технологии): монография / А. А. Алексеев, В. А. Алешкин, М. С. Афанасьев [и др.]. // Учебное пособие. – Санкт-Петербург: спецЛит/ А. – 2020. – 319 с.

28. Опыт лечения свища культи правого главного бронха с применением сосудистого окклюдера / А. В. Баженов, П. М. Хольный, Л. В. Кардапольцев [и др.]. // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95, № 1. – С. 51–55. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2017-95-1-51-55>.

29. Основные механизмы развития острой послеоперационной эмпиемы плевры и пути их профилактики / Д. А. Исмаилов, Г. Л. Пахомов, Р. Я. Хаялиев [и др.]. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2009. – Т. 2, № 2. – С. 108–115. <https://vestnik-surgery.com/index.php/journal/article/view/332> 19.

30. Первый опыт применения клеточных технологий в торакальной хирургии / В. И. Егоров, П. М. Ионов, Ю. В. Юркевич [и др.]. // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 7–13. <https://doi.org/10.17816/mechnikov2015727-13>.

31. Перельман, М. И. Торакальная хирургия и ее перспективы / М. И. Перельман // Пульмонология. – 1995. – № 2. – С. 6 – 16.

32. Петровский, Б. В. Резекция и пластика бронхов: учебное пособие / Б. В. Петровский, М. И. Перельман, А. П. Кузьмичев // М.: Медицина, 1966. – 192 с.

33. Превентивная эзофагомиобронхопластика – надежный способ профилактики несостоятельности культи бронха и развития бронхоплеврального свища при пульмонэктомии по поводу рака легкого / Р. А. Сулиманов, Е. С. Спасский, Р. Р. Сулиманов [и др.]. // Креативная хирургия и онкология. – 2023. – Т. 13, № 4. С. 298–303. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2023-13-4-3>.

34. Применение ксеноперикарда в сочетании с npwt (negative pressure wound therapy) в лечении распространенной эмпиемы плевры с бронхоплевральным свищом (клиническое наблюдение) / Э. А. Галлямов, А. И. Сурков, А. В. Никулин [и др.]. // Хирургическая практика. – 2022. – № 2. – С. 75–83. <https://doi.org/10.38181/2223-2427-2022-2-75-83>.

35. Радионов, Б. В. Радикальные операции на главных бронхах у больных с культевыми свищами / Б. В. Радионов, Ю. Ф. Савенков, И. М. Мельник. – Днепропетровск: РВА. Днипро-ВАЛ, 2004. – 334 с.

36. Роль интерлейкина-8 в непосредственной регуляции функциональной активности Т-лимфоцитов / М. Е. Меняйло, В. В. Малащенко, В. А. Шмаров [и др.]. // Медицинская иммунология. – 2017. Т. 19, № 5. – С. 529–536. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-5-529-536>.

37. Семенов, Г. М. Хирургический шов: учебное пособие / Г. М. Семенов, В. Л. Петришин, М. В. Ковшова. – М.: Питер, 2001. – 256 с.

38. Сердечно-сосудистые и онкологические заболевания – фокус на модифицируемых факторах риска и современные патогенетические аспекты / Ф. Р. Акилджонов, Ю. И. Бузиашвили, И. С. Стилиди [и др.]. // Вестник РАМН. – 2023 – №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/serdechno-sosudistye-i-onkologicheskie-zabolevaniya-fokus-na-modifitsiruemyh-faktorah-riska-i-sovremennye-patogeneticheskie-aspekty> (дата обращения: 26.05.2024).

39. Сочетанное использование остеопластики и обогащенной тромбоцитами плазмы в травматологии и ортопедии / И. А. Кирилова, Н. Г. Фомичев, В. Т. Подорожная [и др.]. // Травматология и ортопедия России. – 2008. – №3. – С. 63 – 67.

40. Способы лечения пациентов с послеоперационными вентральными грыжами и сформированными свищами кишечника / В. И. Белоконев, С. Ю. Пушкин [и др.] // Новости хирургии. – 2022. – №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sposoby-lecheniya-patsientov-s-posleoperatsionnymi-ventralnymi-gryzhami-i-sformirovannymi-svischami-kishechnika>. Режим доступа: свободный (дата обращения: 19.04.2023).

41. Сравнительная оценка эффективности формирования культи бронха с использованием шруновидного имплантата из никелида титана и лавсановой нити / Г. Ц. Дамбаев, А. А. Нагайцев, В. Я. Гидалевич [и др.]. // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2022. – Т. 25, № 2. – С. 15–24. <https://doi.org/10.52581/1814-1471/81/02>.
42. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины / А. В. Веремеева, Р. Н. Болгарин, М. А. Петков // Гены и клетки. – 2016. – Т. 11., №1. – С. 35–42. <https://doi.org/10.23868/gc120559>.
43. Стромальные клетки жировой ткани в регенеративной хирургии / В. Б. Карпюк, В. А. Порханов, И. В. Гилевич [и др.]. // Инновационная медицина Кубани. – 2018. – № 3. С. 64–71.
44. Трансстернальная окклюзия культи главного бронха при бронхоплевральном свище и неспецифической эмпиеме плевры / А. А. Печетов, А. Ю. Грищюта, Ю. С. Есаков [и др.]. // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2019. – №7. С. 5–9. <https://doi.org/10.17116/hirurgia20190715>.
45. Трансстернальная окклюзия свища главного бронха после пневмонэктомии / В. А. Порханов, И. С. Поляков, В. Б. Кононенко [и др.]. // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2020. – № 10. С. 11–22.
46. Трахтенберг, А. Х. Рак легкого / А. Х. Трахтенберг, В. И. Чиссов / Атлас. – М.: ГЭОТАР– Медиа, 2009. – 656 с.
47. Хирургические инфекции груди и живота / Л. Н. Бисенков, А. Н. Бельских, Д. В. Гладышев [и др.]. – Санкт-Петербург: Изд-во Litres, 2022. – 352 с.
48. Хирургическое лечение бронхоплевральных осложнений после пневмонэктомий у больных туберкулезом / Д. Б. Гиллер, О. Ш. Кесаев, А. Э. Эргешов [и др.]. // Вестник ЦНИИТ. – 2020. – №2. – С. 49–59.
49. Хирургия бронхоплеврального свища после анатомических резекций / Е. А. Корымасов, И. С. Поляков, А. С. Беньян [и др.]. // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2023. – №2. – С. 30–34.

50. Чичеватов, Д. А. Диафрагмальный и салниковый лоскуты в грудной хирургии: учебное пособие / Д. А. Чичеватов. – Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб, 2013. – 144 с.
51. Этапная реконструктивно-восстановительная хирургия при бронхоплевральном свище / Е. А. Корымасов, М. А. Медведчиков-Ардия, И. С. Поляков [и др.]. // Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова. – 2023. – №4. – С. 61–65.
52. Этапное лечение постпневмонэктомической эмпиемы. Дальневосточный медицинский журнал // А. А. Шевченко, А. В. Кошевой, Е. А. Кашкаров [и др.]. – 2015. № 4. – С. 108–110.
53. Эффективное применение эндоскопической вакуумной системы в комплексном лечении больного с дефектом абдоминального сегмента пищевода после гастрэктомии / О. Б. Абу-Хайдар, А. С. Водолеев, А. Б. Рябов [и др.]. // Современная Онкология. – 2019. – Т. 21, №2. – С. 51–54. <https://doi.org/10.26442/18151434.2019.2.190411>.
54. A case of bronchopleural fistula after lung cancer surgery treated with atrial septal defect occluder / J. Zhou, H. Liu, C. Bian [et al.]. // Chinese Journal of Respiratory and Critical Care. – 2021. – Vol. 20(10). – P. 741–742.
55. A case of complex bronchopleural fistula treated with ventricular septal occluder guided by flexible bronchoscopy / Z. Liu, L. Li, R. Ni [et al.]. // Journal of Zhengzhou University. – 2022. – Vol. 57 (5). P. 737–740.
56. A clinical risk model for the evaluation of bronchopleural fistula in non-small cell lung cancer after pneumonectomy / X. Hu, L. Duan, G. Jiang [et al.]. // Ann Thorac Surg. – 2013. – Vol. 96. – P. 419–24.
57. A new bronchoscopic treatment of tracheomediastinal fistula using autologous adipose-derived stem cells / P. D. Alvarez, M. García-Arranz, T. Georgiev-Hristov, D. García-Olmo [et al.]. // Thorax. – 2008. Vol. 63 (4). P. 374–376. <https://doi.org/10.1136/thx.2007.083857>.

58. A skin fixation method for decreasing the influence of wound contraction on wound healing in a rat model / S. Bae, Y. Bae, S. Nam [et al.]. // *Arch Plast Surg.* – 2012. Vol. – 39. P. 457-62. <http://doi.org/10.5999/aps.2012.39.5.457>.
59. A systematic review and meta-analysis-does chronic obstructive pulmonary disease predispose to bronchopleural fistula formation in patients undergoing lung cancer surgery / S. Li, X. Zhou, J. Huang [et al.]. // *J Thorac Dis.* – 2016. – Vol. 8 (7). – P. 1625 – 1638. <https://doi.org/10.21037/jtd.2016.05.78>.
60. Abruzzini procedure for the treatment of bronchopleural fistulas: surgical technique description using intraoperative recording / P. Gregorio, I. Chirichela [et al.]. // *J Vis Surg.* – 2023. – Vol. 9. – P. – 13. <https://doi.org/10.21037/jovs-22-27>.
61. Adipose mesenchymal stem cells combined with platelet-rich plasma accelerate diabetic wound healing by modulating the Notch pathway / N. Ebrahim, A. Dessouky, O. Mostafa [et al.]. // *Stem Cell Res Ther.* – 2021. – Vol. 12(1). – P. 392.
62. Adipose-derived stem cells combined with platelet-rich plasma enhance wound healing in a rat model of full-thickness skin defects / X. Ni, X. Shan, L. Xu [et al.]. // *Stem Cell Res Ther.* – 2021. – Vol. 12(1). – P. 226. <https://doi.org/10.1177/09636897241235460>.
63. Amosov, N. M. Pulmonary resection with mechanical suture / N. M. Amosov, K K. Berezovsky // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 1961. Vol. 41. P. 325–329.
64. Amplatzer Occluders for Effective Nonsurgical Management of Bronchopleural Fistulae / E. Gershman, K. Azem, P. Heesen [et al.]. // *Ann Thorac Surg.* – 2024. – Vol. 118 (1). – P. 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2023.08.031>.
65. An Approach towards a GMP Compliant In-Vitro Expansion of Human Adipose Stem Cells for Autologous Therapies / V. Jossen, F. Muoio, S. Panella [et al.]. // *Bioengineering (Basel).* – 2020. – Vol. 7(3):77. doi: 10.3390/bioengineering7030077.
66. Application of different types of congenital heart defect occluder in bronchopleural fistula / X. Wang, H. Huang, W. Zhang, [et al.]. // *Chinese Journal of Respiratory and Critical Care.* – 2021. – Vol. 20 (1). – P. 37–41.

67. Application of Mesenchymal Stem Cells in Inflammatory and Fibrotic Diseases / J. Ryu, E. Jeong, J. Kim [et al.]. // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21(21). – P. 8366. <https://doi.org/10.3390/ijms21218366>.
68. Aronowitz, J. A. Adipose stromal vascular fraction isolation: a head-to-head comparison of four commercial cell separation systems / J. A. Aronowitz, J. D. Ellenhorn // *Plast Reconstr Surg.* – 2013. Vol. 132 (6). – P. 932–939. <http://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3182a80652>.
69. Autologous Multilayered Fibroblast Sheets Can Reinforce Bronchial Stump in a Rat Model / S. Yoshimine, K. Ueno, J. Murakami [et al.]. // *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* – 2022. Vol – 34 (1). P. 349–358. <http://doi.org/10.1053/j.semtcvs.2021.03.010>.
70. Batihan, G. Bronchopleural Fistula: Causes, Diagnoses and Management / G. Batihan, K. Ceylan // *Diseases of Pleura.* IntechOpen. – 2022. – doi:10.5772/intechopen.88127.
71. Bergeron, E.J. Chronic Infections of the chest wall / E. J. Bergeron, R. A. Meguid, J.D. Mitchell // *Thorac. Surg. Clin.*–2017.–Vol.27. – P. 87–97.
72. Bjork, V. O. Suture material and technique for bronchial closure and bronchial anastomosis / V. O. Bjork // *J Thorac Surg.* – 1956. – Vol. – 32. – P. 22–27.
73. Borthwick, L. The IL-1 cytokine family and its role in inflammation and fibrosis in the lung / L. Borthwick // *Semin Immunopathol.* – 2016. –Vol. 38 (4). – P. 517–34. <http://doi.org/10.1007/s00281-016-0559-z>.
74. Bribriesco, A. Patterson G. Management of Postpneumectomy Bronchopleural Fistula: From Thoracoplasty to Transsternal Closure / A. Bribriesco, G. Patterson // *Thorac Surg Clin.* – 2018. – Vol. 28 (3). – P. 323–335. <https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2018.05.008>.
75. Bronchial stump using with an intercostal muscle flap in diabetic patients / P. Sfyridis, E. Kapetanakis, N. Baltaviannis [et al.]. // *Ann Thorac Surg.* – 2007. – Vol. 84. – P. 967–972.
76. Bronchopleural Fistula / I. Salik, R. Vashisht, A. Abramowicz [et al.] // In: *StatPearls [Internet]:* – 2025. – Treasure Island (FL):

URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534765/>. – Режим доступа: свободный (дата обращения 03.04.2025)

77. Bronchopleural fistula after pneumonectomy: risk factors and management, focusing on open-window thoracostomy / A. Mazzella, A. Pardolesi, P. Maisonneuve [et al.]. // *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* – 2018. – Vol. 30 (1). – P. 104–113. <https://doi.org/10.1053/j.semtcvs.2017.10.003>.

78. Bronchopleural fistula in adults. Review / M. Adnan, F. Kheir [et al.]. // – 2024. – URL: <https://www.uptodate.com/contents/bronchopleural-fistula-in-adults>. Режим доступа: свободный (дата обращения 20.03.2023).

79. Bronchoscopic treatment of tracheobronchial fistula with autologous platelet-rich plasma / M. Wu, H. Lin, L. Shi [et al.]. // *Ann Thorac Surg.* – 2021. – Vol. 111 (2). P. e129–31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2020.05.047>.

80. Cardillo, G. The Rationale for Treatment of Postresectional Bronchopleural Fistula: Analysis of 52 Patients / G. Cardillo, Carbone L, Carleo F. // *The Annals of Thoracic Surgery.* – 2015. Vol. 100 (1). – P. 251-257. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2015.03.014>.

81. Castro-Poceiro J., Fernández-Clotet A., Panés J. Mesenchymal stromal cells in the treatment of perianal fistulas in Crohn's disease // *Immunotherapy.* – 2018. – Vol. 10 (14). – P. 1203-1217. <https://doi.org/10.2217/imt-2018-0099>.

82. Cell therapies for skin regeneration: an overview of 40 years of experience in burn units / P. Abdel-Sayed, M. Michetti, C. Scaletta [et al.]. // *Swiss Med Wkly.* – 2019. – Vol. 19 (149). <https://doi.org/doi:10.4414/smw.2019.20079>.

83. Chicharro-Alcantara, D. New Insights for Cutaneous Wound Healing Management. / *J Funct Biomater* // D. Chicharro-Alcantra, M. Rubio-Zaragoza, E. Damiá-Gimenez. – 2018. – Vol. 9 (1). – P. 10. <https://doi.org/10.3390/jfb9010010>.

84. Cicero, L. Do mesenchymal stem cells play a role in vocal fold fat graft survival? / L. Cicero, E. Montelatici, G. Cantarella // *Cell Prolif.* – 2008. – Vol. 41 (3). – P. 460–473.

85. Clark, J. Management of complications after lung resection: prolonged air leak and bronchopleural fistula / J. Clark, D. Cooke, L. Brown // *Thorac Surg Clin.* – 2020. – Vol. 30 (3). P. 347–358. <https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2020.04.008>.

86. Closure of a recurrent bronchopleural fistula using a matrix seeded with patient-derived mesenchymal stem cells / J. Aho, A. Dietz, D. Radel [et al.]. // *Stem Cells Transl Med.* – 2016. – Vol. 5 (10). – P. 1375–1379. <https://doi.org/10.5966/sctm.2016-0078>.
87. Closure of bronchopleural fistula with mesenchymal stem cells: case report and brief literature review / Y. Zeng, H. Gao, X. Zhang [et al.]. // *Respiration.* – 2019. – 97 (3). – P. 273–276. <https://doi.org/10.1159/000493757>.
88. Combined use of plateletrich plasma and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells shows a synergistic effect in experimental spinal cord injury / R. Salarinia, M. Hosseini, Y. Mohamadi [et al.]. // *J Chem Neuroanat.* – 2020. – Vol. 110. – P. 101870.
89. Comparative regenerative mechanisms across different mammalian tissues / S. E. Iisma, X. Kaidonis, A. M., Nicks [et al.]. // *npj Regen Med.* – 2018. – Vol. 3 (6). <https://doi.org/10.1038/s41536-018-0044-5>.
90. Correa-Gallegos, D. Fibroblasts as confederates of the immune system / D. Correa-Gallegos, D. Jiang, Y. Rinkevich // *Immunol Rev.* – 2021. – Vol. 302 (1). – P. 147–162. <https://doi.org/10.1111/imr>.
91. Dal Agnol, G. Surgical approaches for bronchopleural fistula / G. Dal Agnol, A. Vieira, R. Oliveira [et al.]. // *Shanghai Chest.* – 2017. – Vol. 1 (14). <https://doi.org/10.21037/shc.2017.06.01>.
92. Darling, G. Risk of a right pneumonectomy: role of bronchopleural fistula / G. Darling, A. Abdurahman, M. Johnston [et al.]. // *Ann Thorac Surg.* – 2005. – Vol. 79 (2). P. 433-437. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2004.07.009>.
93. Davies, H. E. Management of pleural infection in adults: British Thoracic Society pleural disease guideline 2010 / H. E. Davies, R. J. O. Davies, C. W. H. Davies // *Thorax.* – 2010. – Vol. 65. ii41–ii53. doi:10.1136/thx.2010.137000.
94. Des Jardins-Park, H. Fibroblasts and wound healing: an update / H. Des Jardins-Park, D. Foster, M. Longaker // *Regen Med.* – 2018. – Vol. 13 (5). P. 491–495. <https://doi.org/10.2217/rme-2018-0073>.

95. Deschamps, C. Empyema following pulmonary resection. / C. Deschamps, M. Allen, V.F. Trastek [et al.]. // *Chest Surg. Clin. N. Am.* – 1994. – Vol. 4 (3). – P. 583 – 592.
96. Diabetes mellitus and risk of bronchopleural fistula after pulmonary resections: A meta-analysis / S. Li, J. Fan, J. Zhou [et al.]. // *Ann Thorac Surg.* – 2016. – Vol. 102. P. 328–339.
97. Díaz-Agero Álvarez, P. J. Novel bronchoscopic treatment for bronchopleural fistula using adipose-derived stromal cells / P. J. Díaz-Agero Álvarez, Y. A. Bellido-Reyes, J. G. Sánchez-Girón // *Cytherapy.* – 2016. – Vol. 18 (1). – P. 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.10.003> .
98. Dulmovits, B. Microvascular remodeling and wound healing: a role for pericytes / B. Dulmovits, I. Herman // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2012. – Vol. 44 (11). – P. 1800-1812. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.06.031>.
99. Effects of platelet-rich plasma on proliferation and myofibroblastic differentiation in human dermal fibroblasts / S. Kushida, N. Kakudo, K. Suzuki [et al.]. // *Ann Plast Surg.* – 2013. – Vol. 71 (2). – P. 219–24. <https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e31823cd7a4>.
100. Efficacy of 0.1% Tazarotene Cream for the Treatment of Photodamage: A 12-Month Multicenter, Randomized Trial / T. Phillips, A. Gottlieb, J. Leyden [et al.]. // *Arch Dermatol.* – 2002. – Vol. 138 (11). – P. 1486–1493. <https://doi.org/10.1001/archderm.138.11.1486>.
101. Efficacy of Homologous, Platelet-rich Plasma Dressing in Chronic Non-healing Ulcers: An Observational Study / R. Prabhu, Ch. Vijayakumar, A. Chandra // *Cureus.* – 2018. – Vol. 10 (2). – P. e2145. <https://doi.org/10.7759/cureus.2145>.
102. Endobronchial closure of the bronchopleural fistula with the ventricular septal defect occluder: a case series / Y. Bai, Y. Li, J. Chi [et al.]. // *BMC Pulmonary Medicine.* – 2021. Vol – 21 (1). P. 313. <http://doi.org/10.1186/s12890-021-01676-3>.
103. Erdag, G. Fibroblasts improve performance of cultured composite skin substitutes on athymic mice / G. Erdag, R. Sheridan // *Burns.* – 2004. – Vol. 30. – P. 322– 328. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2003.12.007>.

104. ERS/ESTS statement on the management of pleural infection in adults / E. Bedawi, S. Ricciardi, M. Hassan [et al.]. // *Eur Respir J.* – 2023. – Vol. 61 (2). – P. 2201062. <https://doi.org/doi:10.1183/13993003.01062-2022>.
105. ESMO Management and treatment adapted recommendations in the COVID-19 era: Lung cancer, *ESMO Open* / A. Passaro, A. Addeo, Ch. Garnier [et al.]. – 2020. – Vol. 5 (3). – P. 820. <https://doi.org/10.1136/esmoopen-2020-000820>.
106. Etude experimentale du comportement des fils synthetiques a resorption lente dans les sutures tracheales / J. Leandri, P. Rey, P. Daumet [et al.]. // *Ann Chir.* – 1982. – Vol. 36. – P. 121–125.
107. Extended sleeve lobectomy for lung cancer (the avoidance of pneumonectomy) / M. Okada, N. Tsubota, M. Yoshimura [et al.]. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 1999. – Vol. 118. – P. 710–714.
108. Extracellular matrix deposition by fibroblasts is necessary to promote capillary-like tube formation in vitro / F. Berthod, L. Germain, N. Tremblay [et al.]. // *J Cell Physiol.* – 2006. – Vol. 207 (2). – P. 491-8. <https://doi.org/10.1002/jcp.20584>.
109. Extracellular matrix fistula plug for repair of bronchopleural fistula / K. Sakata, J. Reisenauer, R. Kern [et al.]. // *Respir Med Case Rep.* – 2018. – Vol. 25. – P. 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2018.09.010>.
110. Fibrin-based scaffold incorporating VEGF- and bFGF-loaded nanoparticles stimulates wound healing in diabetic mice / P. Losi, E. Briganti, C. Errico, [et al.]. // *Acta Biomater.* – 2013. – Vol. 9 (8). – P. 7814–7821. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.019>.
111. Fibroblasts as a practical alternative to mesenchymal stem cells / T. Ichim, P. O'Heeron, S. Kesari [et al.]. // *J Transl Med.* – 2018. Vol. 16 (1). – P. 212. <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1536-1>.
112. Fiorelli, A. Tailored airway stent: the new frontiers of the endoscopic treatment of broncho-pleural fistula / A. Fiorelli, V. Ferrara, M. Bove // *J Thorac Dis.* – 2019. – Vol. 11 (Suppl 9):S1339-S1341 <https://doi.org/10.21037/jtd.2019.04.07>
113. From Bedside to the Bench – A Call for Novel Approaches to Prognostic Evaluation and Treatment of Empyema / S. Karandashova, G. Florova, S. Idell [et al.].

//Front. Pharmacol. – 2022. – Vol. 12. – P. 806393. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.806393>.

114. Fruchter, O. Endobronchial closure of bronchopleural fistulas with Amplatzer vascular plug / O. Fruchter, E. Bruckheimer, Y. Raviv // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. – 2012. – Vol. 41(1). P. 46–49. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2011.02.080>.

115. Giannandrea, M. Diverse functions of matrix metalloproteinases during fibrosis / M. Giannandrea, M. Parks // DMM Dis. Model. Mech. – 2014. – Vol. 7. – P. 193–203. <https://doi.org/10.1242/dmm.012062>.

116. Graham, E. Successful Removal of an Entire Lung for Carcinoma of the Bronchus / E. Graham, J. Singer // JAMA. – 1933. – Vol. 101. – P. 1371–1374.

117. Grillo, H. Tracheal surgery / H. Grillo // Scand J Thorac Cardiovasc Surg. 1983. – P. 1767–1777.

118. Hakim, M. Role of automatic staplers in the aetiology of bronchopleural fistula / M. Hakim, B. Milstein // Thorax. – 1985. – Vol. 40. – P. 27–31.

119. Han, S. The treatment of diabetic foot ulcers with uncultured, processed lipoaspirate cells: A pilot study / S. Han, H. Kim, W. Kim // Wound Repair and Regeneration. – 2010. – Vol. 18 (4). – P. 342. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1022179>.

120. He, J. Thoracoscopic anatomic pulmonary resection / J. He, X. Xu // J Thorac Dis. – 2012. – Vol. 4. – P. 520–547.

121. Heffner, J. Multicenter trials of treatment for empyema after all these years / J. Heffner // N. Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 3 (9). – P. 926–928.

122. Hendrix, A. The Role of Matrix Metalloproteinases in Development, Repair, and Destruction of the Lungs / A. Hendrix, F. Kheradmand // Prog Mol Biol Transl Sci. – 2017. – Vol. 148. – P. 1–29. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.04.004>.

123. Hirose, Y. Comparison of trophic factors secreted from human adipose-derived stromal vascular fraction with those from adipose-derived stem cells in the same individuals / Y. Hirose, Y. Funahashi, Y. Matsukawa // Cytotherapy. – 2018. – Vol. 20. – P. 589–591.

124. Hollaus, P. Risk factors for the development of postoperative complications after bronchial sleeve resection for malignancy: a univariate and multivariate analysis / P. Hollaus, G. Wilfing, P. Wurnig // *Ann Thorac Surg.* – 2003. – Vol. 75. – P. 966–972.

125. Hollaus, P. Telescope anastomosis in bronchial sleeve resections with high-caliber mismatch / P. Hollaus, D. Janakiev, N. Pridun // *Ann Thorac Surg.* – 2001. – Vol. 72 (2). – P. 357–361.

126. Human acellular dermis seeded with autologous fibroblasts enhances bronchial anastomotic healing in an irradiated rodent sleeve resection model / E. Roessner, M. Vitacolonna, A. Schulmeister [et al.]. // *Ann Surg Oncol.* – 2013. – Vol. 3. – P. S709-15. <https://doi.org/10.1245/s10434-013-3209-x>.

127. Icard, P. Survival and prognostic factors in patients undergoing parenchymal saving bronchoplastic operation for primary lung cancer: a series of 110 consecutive cases / P. Icard, J. Regnard, L. Guibert // *Eur J Cardiothorac Surg.* – 1999. – Vol. 15. – P. 426 – 432.

128. Indocyanine green fluorescence in the assessment of the quality of the pedicled intercostal muscle flap: a pilot study / J. Piwkowski, P. Gabryel [et al.]. // *Eur J Cardiothorac Surg.* – 2013. – P. 44 (1). P. 77–81. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezt102>.

129. Influence of suture on bronchial anastomosis in growing puppies / C. Hsieh, M. Tomita, H. Ayabe [et al.]. // *J Thorac Cardio-vasc Surg.* – 1988. – Vol. 95. – P. 998 – 1002.

130. Injection bronchoplasty with carboxymethylcellulose with cystoscopy needle for neonatal persistent bronchopleural fistulae / N. Beckmann, J. Luttrell, B. Petty [et al.]. // *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology.* – 2019. Vol – 127. – P. 127109651. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2019.109651.109651>.

131. Innovative method for Amplatzer device implantation in patients with bronchopleural fistulas / J. Zhang, H. Hu, L. Xu [et al.]. // *BMC Pulm Med.* – 2021. – Vol. – 21 (137). <https://doi.org/10.1186/s12890-021-01493-8>.

132. Iwasaki, M. Negative-pressure wound therapy in combination with bronchial occlusion to treat bronchopleural fistula: a case report / M. Iwasaki, M. Shimomura,

T. Ii // *Surg Case Rep.* – 2021. – Vol. 7 (1). – P. 61. <https://doi.org/10.1186/s40792-021-01144-4>.

133. Jacobsen, K. Bronchopleural Fistula after Pulmonary Resection: Risk Factors, Diagnoses and Management. *Pleura – A Surgical Perspective.* / K. Jacobsen // *IntechOpen.* – 2022. – P.176.<https://doi.org/10.5772/intechopen.100209>.

134. Jiang, T. Progress in interventional treatment of bronchopleural fistula / T. Jiang, X. Han // *Henan Medical Research.* – 2018. – Vol. 27 (12). – P. 2194–2195. <https://doi.org/10.1155/2023/8615055>.

135. Jichen, Q. Risk factor comparison and clinical analysis of early and late bronchopleural fistula after non-small cell lung cancer surgery / Q. Jichen, G. Chen, G. Jiang // *Ann Thorac Surg.* – 2009. – Vol. 88 (5). – P.1589–1593. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2009.06.024>.

136. Jin, L. Bronchoscopic interventions for bronchopleural fistulas. / L. Jin, Y. Li // *Therapeutic Advances in Respiratory Disease.* – 2023. – Vol. 17. 17534666231164541. <https://doi.org/10.1177/17534666231164541>.

137. Kapoor, H. Comprehensive Imaging Review of Pleural Fistulas from Diagnosis to Management / H. Kapoor, V. Gulati, A. Gulati // *Radiographics.* – 2022. – Vol. 42 (7). – P. 1940–1955. <https://doi.org/10.1148/rg.220083>.

138. Kojima, K. The association of vacuum-assisted closure therapy with dynamic volume change of a muscle flap transposed in an empyema cavity for chronic empyema: a case report / K. Kojima, T. Sakamoto, T. Sakurai [et al.]. // *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2020. <https://doi.org/10.5761/atcs.cr.19-00235>.

139. Kutlu, C. Tracheobronchial sleeve resection with the use of a continuous anastomosis: results of one hundred consecutive cases / C. Kultu, P. Goldstraw // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 1999. – Vol. 117. – P. 1112–1117.

140. Lacci, K. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing / K. Lacci, A. Dardik // *Yale J Biol Med.* – 2010 – Vol. 83 (1). – P. 1–9.

141. Landen, N. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing / N. Landen, D. Li, M. Stahle // *Cell Mol Life Sci.* – 2016. – Vol. 73 (20). – P. 3861–3885. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2268-0>.

142. Laperuta, P. Post-pneumonectomy bronchopleural fistula successfully closed by open-window thoracostomy associated with V.A.C. therapy / P. Laperuta, F. Napolitano, A. Vatrella // *International Journal of Surgery*. – 2014. – Vol.12. – P.17–19.

143. Large central bronchopleural fistula closed by bronchoscopic administration of recombinant bovine basic fibroblast growth factor: a case report / S. Guo, Y. Bai, Y. Li [et al.]. // *Respiration*. – 2021. – Vol. 100 (10). – P. 1000–1004. <https://doi.org/10.1159/000514717>.

144. Leong, E. Distinct Metalloproteinase Expression and Functions in Systemic Sclerosis and Fibrosis: What We Know and the Potential for Intervention / E. Leong, M. Bezuhly, J. Marshall // *Front. Physiol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 727451. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.727451>.

145. Liberman, M. Bronchial stump dehiscence: Update on prevention and management. M. Liberman, S. Cassivi // *Semin Thorac Cardiovasc Surg.* – 2007. – Vol. 19. – P. 366–373.

146. Local Application of Minimally Manipulated Autologous Stromal Vascular Fraction (SVF) Reduces Inflammation and Improves Bilio-Biliary Anastomosis Integrity / I. Klabukov, G. Shatveryan, N. Bagmet [et al.]. // *Int J Mol Sci.* – 2024. – Vol. 26(1). – P. 222.

147. Löffek, S. "Series matrix metalloproteinases in lung health and disease": Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance / S. Loffek, O. Schilling, C. Franzke // *Eur Respir J.* – 2011. – Vol. 38 (1). – P. 191–208. <https://doi.org/10.1183/09031936.00146510>.

148. Long-term efficacy and safety of stem cell therapy (Cx601) for complex perianal fistulas in patients with Crohn's disease / J. Panés, D. García-Olmo, G. Van Assche [et al.]. // *Gastroenterology*. – 2018. – Vol. 154 (5). – P. 1334–1342. <https://doi.org/10.1053/j.gastro>.

149. Lopez-Pastorini, A. Clinical and bronchoscopic aspects of bronchial healing after sleeve resection for lung cancer: a multivariate analysis on 541 cases / A. Lopez-Pastorini, C. Eckermann, A. Koryllos // *J Thorac Dis.* – 2022. – Vol.14 (4). – P. 927-938. <https://doi.org/10.21037/jtd.2016.05.78>.

150. Low incidence of bronchopleural fistula after pneumonectomy for lung cancer / N. Panagopoulou, E. Apostolakis, E. Koletsis [et al.]. // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* – 2009. – Vol. 9. – P. 571–575.

151. Lynch, M. Fibroblast heterogeneity: implications for human disease / *J Clin Invest.* // M. Lynch, F. Watt – 2018. – Vol. 128 (1). – P. 6–35. <https://doi.org/10.1172/>.

152. Management of post pneumonectomy bronchopleural fistula: the transpericardial approach / S. Bal, K. Ali, B. Haridas [et al.]. // *Journal of Visualized Surgery.* – 2018. – Vol. 4. P. 237–237. <https://doi.org/10.21037/jovs.2018.10.18>.

153. Marx, R. Platelet-rich plasma: evidence to support its use / R. Marx // *J Oral Maxillofac Surg.* – 2004. – Vol. 62 (4). – P. 489–96. doi: 10.1016/j.joms.2003.12.003.

154. Mathew, J. L. Intrapleural fibrinolytic therapy in empyema thoracis: Where are we now and where do we go from here? // *Indian J. Pediatr.* – 2019. – Vol. 86 (12). – P.1081–1082. doi: 10.1007/s12098-019-03102-3.

155. Mazzella, A. Bronchopleural fistula after lobectomy for lung cancer: how to manage this life-threatening complication using both old and innovative solutions / M. Casiraghi, C. Uslenghi // *Cancers (Basel).* – 2024. – Vol. 16 (6). – P. 1146. <https://doi.org/10.3390/cancers16061146>.

156. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy / X. Fan, Y. Zhang, X. Li [et al.]. // *Cell Mol Life Sci.* – 2020. – Vol. 77 (14). – P. 2771–2794. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03454-6>.

157. Merritt, R. Benign emptying of the postpneumonectomy space / R. Merritt, S. Reznik, M. DaSilva // *Ann Thorac Surg.* – 2011. – Vol. 92 (3). – P.1076–1081. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.04.082>.

158. Mesenchymal stem cell culture of laboratory primates and the prospects for their use in experimental medicine / V. Agrba, B. Lapin, V. Porhanov [et al.]. // *Bull Exp Biol Med.* – 2012. – 154 (1). – P. 133–135. <https://doi.org/10.1007/s10517-012-1893-3>.

159. Mesenchymal stem cells: cell therapy and regeneration potential / C. Brown, C. McKee, S. Bakshi [et al.]. // *J Tissue Eng Regen Med.* – 2019. – 13 (9). – P. 1738 – 1755. <https://doi.org/10.1002/term.2914>.

160. Microwave synthesis of hybrid inorganic–organic materials including porous Cu₃(BTC)₂ from Cu(II)-trimesate mixture / Y. Seo, G. Hundal, I. Jang [et al.]. // *Microporous and Mesoporous Materials*. – 2009. – Vol. 119 (1–3). – P. 331 – 337. <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2008.10.035>.
161. Mikaelian, D. Lipoinjection for unilateral vocal cord paralysis / D. Mikaelian, L. Lowry, R. Sataloff // *Laryngoscope*. – 1991. – Vol. 101 (5). – P. 465–468.
162. Minter, D. Adipose stem cells: biology, safety, regulation, and regenerative potential / D. Minter, K. Marra, J. Rubin // *Clin Plast Surg*. – 2015. – Vol. 42 (2). – P. 169–179.
163. Moon, H. Prognosis of full-thickness skin defects in premature infants / H. Moon, J. Burm, W. Yang // *Arch Plast Surg*. – 2012. – Vol. 39. – P. 463–468.
164. Nazari, S. Invaginated bronchoplasty: wedge resection and sleeve reconstruction / G. Nascimbene, Z. Mourad, G. Fraipont // *Minerva chirurgica*. – 1996. – Vol. 51. – P. 413–419.
165. Negative pressure wound therapy for broncho-pleural fistula with collapsed lung / Y. Hirai, Y. Yamashita, H. Tazawa [et al.]. // *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. – 2021. – Vol. 69 (5). – P. 890893. <https://doi.org/10.1007/s11748-020-01569-y>.
166. Nelson, B. In vitro comparison of V-Loc™ versus Biosyn™ in a one-layer end-to-end anastomosis of equine jejunum / B. Nelson, D. Hassel // *Vet Surg*. – 2014. – Vol. 43 (1). – P. 80–84. <https://doi.org/10.1111/j.1532-950X.2013.12081>.
167. Neoadjuvant chemoradiation for clinically advanced non-small cell lung cancer: an analysis of 233 patients / A. W. Kim, M. J. Liptay, P. Bonomi [et al.]. // *Ann Thorac Surg*. – 2011. – Vol. 92 (1). – P. 233–241.
168. Neoadjuvant therapy and risk of bronchopleural fistula after lung cancer surgery: a systematic meta-analysis of 14 912 patients / S. Li, J. Fan, J. Liu [et al.]. // *Jpn J Clin Oncol*. – 2016. – Vol. 46 (6). – P. 534–46. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyw037>.
169. Ning, Y. Endobronchial naso-bronchial lavage: an alternative interventional treatment for post-lobectomy bronchopleural fistula / Y. Ning, H. Huang, L. Xue // *World*

Journal of Surgery. – 2017. – Vol. 41 (3). – P. 785–789. <https://doi.org/10.1007/s00268-016-3779-4>.

170. Nordin, U. Prevention of tracheal stricture in end-to-end anastomosis / U. Nordin, L. Ohlsen // Arch Otolaryngol. – 1982. – Vol. 108. – P. 308–314.

171. Novel Aspects of the Immune Response Involved in the Peritoneal Damage in Chronic Kidney Disease Patients under Dialysis / F. Trionfetti, V. Marchant, G. González-Mateo [et al.]. // Int J Mol Sci. – 2023. – Vol. 24 (6). – P. 5763. <https://doi.org/10.3390/ijms24065763>.

172. Okuda, M. Risk factor of bronchopleural fistula after general thoracic surgery: review article / T. Go, H. Yokomise // Gen Thorac Cardiovasc Surg. – 2017. – Vol. 65 (12). – P. 679–685. <https://doi.org/10.1007/s11748-017-0846-1>.

173. Orlandini, M. In fibroblasts Vegf-D expression is induced by cell-cell contact mediated by cadherin-11 / M. Orlandini, S. Oliviero // J Biol Chem. – 2001. – Vol. 276 (9). – P. 6576–81. <https://doi.org/10.1074/jbc.M009573200>.

174. Palade, E. Bronchus anastomosis after sleeve resection for lung cancer: does the suture technique have an impact on postoperative complication rate? / E. Palade, H. Holdt, B. Passlick // Interact Cardiovasc Thorac Surg. – 2015. – Vol. 20 (6). – P. 798 – 804.

175. Papiashvilli, M. Endobronchial closure of recurrent bronchopleural and tracheopleural fistulae by two amplatzer devices / M. Papiashvilli, I. Bar, L. Sasson // Heart Lung & Circulation. – 2013. – Vol. 22 (11). – P. 959–961. <https://doi.org/10.1016/j.hlc.2013.02.005>.

176. Park, Y. Algorithm for primary full-thickness skin grafting in pediatric hand burns / Y. Park, J. Lee, G. Huh // Arch Plast Surg. – 2012. – Vol. 39(5) – P. 483–488.

177. Passera, E. Amplatzer device and vacuum-assisted closure therapy to treat a thoracic empyema with bronchopleural fistula / E. Passera , G. Guanella, A. Meroni // Ann Thorac Surg. – 2011. – 92 (2). – P. 23–25. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.03.047>.

178. Peleg, H. An experimental comparison of suture materials for tracheal and bronchial anastomoses / H. Peleg, U. Rao, L. Emrich // *Thorac Cardiovasc Surg.* – 1986. – Vol. 34. – P. 384–388. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1022179>.
179. Peng, Y. Risk factors of postoperative pancreatic fistula in patients after distal pancreatectomy: a systematic review and meta-analysis / Y. Peng, X. Zhu, L. Yin // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 185. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00311-8>.
180. Petrella, F. Stem cells application in thoracic surgery: current perspective and future directions / *Adv Exp Med Biol.* // F. Petrella, L. Spaggiari – 2018. – Vol. 1089. P. 143–147. <https://doi.org/10.1007/5584.2018.180>.
181. Pietrzak W. Platelet rich plasma: biology and new technology / W. Pietrzak, B. Eppley // *J Craniofac Surg.* – 2005. – Vol. 16 (6). – P. 1043–1054. <https://doi.org/10.1097/01.scs.0000186454.07097.bf>.
182. Platelet Concentrates Preconditioning of Mesenchymal Stem Cells and Combined Therapies: Integrating Regenerative Strategies for Enhanced Clinical Applications / X. Li, H. Xiao, Z. Wang [et al.]. // *Cell Transplant.* – 2024. – Vol. 33:9636897241235460.
183. Platelet Concentrates Preconditioning of Mesenchymal Stem Cells and Combined Therapies: Integrating Regenerative Strategies for Enhanced Clinical Applications / X. Li, H. Xiao, Z. Wang [et al.]. // *Cell Transplant.* – 2024. – Vol. 33. <https://doi.org/10.1177/09636897241235460>.
184. Platelet rich plasma enhanced neuro-regeneration of human dental pulp stem cells in vitro and in rat spinal cord / Z. Hu, H. Chen, B. Wei [et al.]. // *Ann Transl Med.* – 2022. – Vol. 10 (10). – P. 584.
185. Platelet-rich plasma and adipose-derived mesenchymal stem cells in association with arthroscopic microfracture of knee articular cartilage defects: a pilot randomized controlled trial / M. Venosa, F. Calafiore, M. Mazzoleni [et al.]. // *Adv Orthop.* – 2022 – P. 6048477. <https://doi.org/10.1155/2022/6048477>.
186. Polydioxanone Absorbable Sutures in Vascular Anastomoses: Experimental and Preliminary Clinical Studies. / Z. Wang, L. Pu, G. Li [et al.]. // *Cardiovascular Surgery.* – 1994. – Vol. 2 (4). – P. 508–513. <https://doi.org/10.1177/096721099400200417>.

187. Porhanov, V. Surgical treatment of «short stump» bronchial fistula / V. Porhanov, I. Poliakov, V. Kononenko // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2000. – Vol. 17(1). – P. 2–7. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(99\)00354-1](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(99)00354-1).
188. Postoperative ischemic bronchitis after jah node dissection and primary lung cancer / L. Benhamed, J Bellier, C Fournier [et al.]. // *Ann Thorac Surg*. – 2011. – Vol. – 91. – P. 355–360.
189. Postpneumonectomy bronchopleural fistula in non-small cell lung cancer patients: incidence, survival, mortality, and treatment analysis / S. Gursoy, S. Yazgan, A. Ucvet [et al.]. // *Surg Today*. – 2018. – Vol. 48 (7). P. 695–702. <https://doi.org/10.1007/s00595-018-1648-5>.
190. Progress and controversy of using atrial septal occluder for the treatment of bronchopleural fistula / Z. Zhong, J. Chen, G. Lin [et al.]. // *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Sciences*. – 2018. – Vol. 41 (6). – P. 490–492.
191. Raina, N. *Angiogenesis: Aspects in wound healing*, Editor(s): Shampa Chatterjee, *Endothelial Signaling in Vascular Dysfunction and Disease* / N. Raina, R. Rani, M. Gupta // Academic Press. – 2021. – P. 77–90. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816196-8.00010-2>.
192. Reactive neurogenesis in response to naturally occurring apoptosis in an adult brain / T. A. Larson, N. M. Thatra, B. H. Lee [et al.]. // *J Neurosci*. – 2014. – Vol. 34 (39). – P. 13066-76. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3316-13.2014>.
193. Redden, M. D. Surgical versus non-surgical management for pleural empyema / M.D. Redden, T.Y. Chin, M.L. van Driel // *Cochrane Database Syst. Rev*. – 2017.– Vol. 17.– P. 3. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD01065>.
194. Reduction in the need for surgery and mortality after early administration of fibrinolytics following empyema drainage / H. Tamiya, T. Jo, A. Yokoyama [et al.]. // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2024. – Vol. 66 (1). – P. 263. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezae263>.
195. Regenerative medicine approaches for the management of respiratory tract fistulas / *Stem Cell Res Ther*. // A. Trivisonno, D. Nachira, I. Boškoski [et al.]. – 2020. – Vol. 11 (1). – P. – 451. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01968-1>.

196. Ricci, Z. Role of computed tomography in guiding the management of peripheral bronchopleural fistula / Z. Ricci, L. Haramati, A. Rosenbaum // *J Thorac Imaging*. – 2002. – Vol. 17 (3). – P. 214 – 218. <https://doi.org/10.1097/00005382-200207000-00006>.

197. Risk assessments for broncho-pleural fistula and respiratory failure after lung cancer surgery by National Clinical Database Japan / S. Endo, N. Ikeda, T. Kondo, [et al.]. // *Gen Thorac Cardiovasc Surg*. – 2019. – Vol. – 67 (3). P. 297–305. <https://doi.org/10.1007/s11748-018-1022-y>.

198. Risk factors for bronchopleural fistula after lobectomy for lung cancer / J. Ichinose, K. Hashimoto, Y. Matsuura [et al.]. // *J Thorac Dis*. – 2023. – Vol. 15 (6). – P. 3330–3338. <https://doi.org/10.21037/jtd-22-1809>.

199. Rodrigues, M. Wound Healing: A Cellular Perspective / M. Rodrigues, N. Kosaric, C. Bonham // *Physiol Rev*. – 2019. – Vol. 99 (1). P. 665–706. <https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017>.

200. Roman, J. Fibroblasts-Warriors at the Intersection of Wound Healing and Disrepair / J. Roman // *Biomolecules* – 2023. – Vol. 13 (6). – P. 945. <https://doi.org/10.3390/biom13060945>.

201. Sarkar, P. Diagnosis and management bronchopleural fistula / P. Sarkar, T. Chandak, R. Shah // *Indian J Chest Dis Allied Sci*. – 2010. – Vol. 52 (2). – P. 97– 104.

202. Scheele, J. Anastomosentechnik an der Trachea / J. Scheele, Gentsch H., Hoffmann W. // *Laryngol Rhino Otol (Stuttg)*. – 1982. – Vol. 61. – P. 107–114.

203. Seguin, A. Tracheal regeneration: evidence of bone marrow mesenchymal stem cell involvement / A. Seguin, S. Baccari, M. Holder-Espinasse [et al.]. // *J Thorac Cardiovasc Surg*. – 2013. – Vol. 145 (5). P. 1297–1304. <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2012.09.079>.

204. Senbu, M. Indications, contributing factors, and short-term outcomes of pneumonectomy: an 8-year retrospective study in a resource-limited setting / M. Senbu // *J Cardiothorac Surg*. – 2025. – Vol. 20 (1). – P. 120. doi: 10.1186/s13019-024-03268-8. PMID: 39910675; PMCID: PMC11796055.

205. Serious adverse events of cell therapy for respiratory diseases: a systematic review and meta-analysis / R. Zhao, Z. Su, J. Wu [et al.]. // *Oncotarget*. – 2017. Vol. 8 (18). – P. 30511-30523. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15426>.
206. Simonacci, F. Off-label use of adipose-derived stem cells / F. Simonacci, N. Bertozzi, E. Raposio // *Ann Med Surg (Lond)*. – 2017. – Vol. 24. – P. 44–51.
207. Skin fibroblasts are potent suppressors of inflammation in experimental arthritis / C. Bouffi, C. Bony, C. Jorgensen [et al.]. // *Annals of the Rheumatic Diseases*. – 2011. Vol. 70. – P.1671–1676.
208. Skin Wound Healing and Scarring: Fetal Wounds and Regenerative Restitution / C. C.Yates, P. Hebda [et al.]. // *Embryo today: review*. – 2012. – Vol. 96 (4). – P. 325–333. <https://doi.org/10.1002/bdrc.21024>.
209. Skrzypczak, P. The technique of stump closure has no impact on post-pneumonectomy bronchopleural fistula in the non-small cell lung cancer – a cross-sectional study / P. Skrzypczak, M. Roszak, M. Kasprzyk / *J Thorac Dis* // – 2022. – Vol. 14 (9). – P. 3343-3351. <https://doi.org/10.21037/jtd-22-240>.
210. Sonobe, M. Analysis of risk factors in bronchopleural fistula after pulmonary resection for primary lung cancer / M. Sonobe, M. Nakagawa, M. Ichinose // *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. – 2000. – Vol. 18 (5). – P. 519–523. [https://doi.org/10.1016/S1010-7940\(00\)00541-8](https://doi.org/10.1016/S1010-7940(00)00541-8).
211. Stamatis, G. Transsternal transpericardial operations in the treatment of bronchopleural fistulas after pneumonectomy. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 1996. G. Stamatis, G. Martini, L. Freitag [et al.]. – Vol. 10 (2). – P. 83–86. [https://doi.org/10.1016/s1010-7940\(96\)80128-x](https://doi.org/10.1016/s1010-7940(96)80128-x).
212. Stem cell therapy for diabetic foot ulcers: a review of preclinical and clinical research / L. Lopes, O. Setia, A. Aurshina [et al.]. // *Stem Cell Res Ther*. – 2018. – Vol. 9 (1). – P. 188. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0938-6>.
213. Stem cell transplantation effectively occludes bronchopleural fistula in an animal model/ F. Petrella, F. Toffalorio, S. Brizzola [et al.]. // *Ann Thorac Surg*. 2014. – Vol. 97 (2). P. 480–483. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2013.10.032>.

214. Stem cell-based therapy for human diseases / D. Hoang, P. Pham, T. Bach [et al.]. // *Signal Transduct Target Ther.* – 2022. – Vol. 7(272). <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01134-4>.

215. Stem cells and bronchial stump healing / D. Gomez-de-Antonio, M. Zurita, M. Santos [et al.]. // *J Thorac Cardiovasc Surg.* – 2010. – Vol. 140 (6). – P. 1397-401. doi: 10.1016/j.jtcvs.2010.03.009.

216. Stem-Cell Therapy for Esophageal Anastomotic Leakage by Autografting Stromal Cells in Fibrin Scaffold / X. Xue, Y. Yan, Y. Ma [et al.]. // *Stem Cells Translational Medicine.* – 2019. – Vol. 8 (6). – P. 548–556, <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0137>.

217. Storelli, E. Sleeve resections with unprotected bronchial anastomoses are safe even after neoadjuvant. E. Storelli, M. Tutic, P. Kestenholz, et al. / *Eur J Cardiothorac Surg* // – 2012. – Vol. – 42 (1). – P. 77–81. <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezr291>.

218. Stunova, A. Dermal fibroblasts-A heterogeneous population with regulatory function in wound healing / A. Stunova, L. Vistejnova // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2018. – Vol. 39. – P. 137-150. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2018.01.003>.

219. Successful use of bio plugs for delayed bronchial closure after pneumonectomy in experimental settings / M. Moriyama, K. Matsumoto, D. Taniguchi, [et al.]. // *Interact CardioVasc Thorac Surg.* – 2022. – Vol. 34 (4). – P.: 660–667. <https://doi.org/doi:10.1093/icvts/ivab306>.

220. Sugarbaker, D. Adult chest surgery. / D. Sugarbaker, R. Bueno, B. Burt, et al // 3rd edition. New York: McGraw-Hill Education: [сайт]. – 2020. – URL: <https://accesssurgery.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2781§ionid=239700479>. – Режим доступа: свободный (дата обращения 05.06.2023)

221. Surgical site infections after lung resection: a prospective study of risk factors in 1,091 consecutive patients / A. Imperatori, E. Nardecchia, M. Dominioni [et al.]. // *J Thorac Dis.* – 2017. – Vol. 9 (9). – P. 3222-3231. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.08.122>.

222. Sziklavari, Z. Outcomes of Vacuum-Assisted Closure in Patients with Empyema Thoracis: A 10-Year Experience / Z. Sziklavari, S. Hammoudeh, A. Petrone //

The Annals of Thoracic Surgery. – 2024. – Vol. 119 (6). – P. 1206-1212. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2024.08.003>.

223. Tang, D. Bronchoscopic injection of bioprotein glue in the treatment of 10 cases of bronchopleural fistula / D. Tang, L. Rong // Journal of Modern Integrated Chinese and Western Medicine. – 2011. – Vol. 20 (9). – P. 1115–1116.

224. Telescoping bronchial anastomosis for extended sleeve lobectomy / Sh. Miyoshi, M. Tamura, O. Araki [et al.]. // The journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2006. – Vol. 132 (4). – P. 978–980.

225. The bronchial segmentation and its anatomical variations. A clinical-anatomic and bronchoscopy study / S. Martin-Ruiz, C. Gutiérrez-Collar, D. Forcén Vicente [et al.]. // Ann Anat. – 2021. – Vol. 235 (151677). <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2021.151677>.

226. The Effect of Autologous Platelet-Rich Plasma on Bronchial Stump Tissue Granulation after Pneumonectomy: Experimental Study / E. Spartalis, P. Tomos [et al.]. // International Scholarly Research Notices. – 2013. – Vol. 6. – P. 864350. <https://doi.org/10.1155/2013/864350>.

227. The FGF system has a key role in regulating vascular integrity / M. Murakami, L. Nguyen, Z. Zhuang [et al.]. // J Clin Invest. – 2008. – Vol. 118 (10). – P. 3355-66. <https://doi.org/10.1172/JCI35298>.

228. The intraarticular injection of adipose-derived stem cells decreases pain and reduces inflammation in knee osteoarthritis, with or without the addition of platelet-rich plasma also improves functionality / L. Carvalho Schweich-Adami, R. Silva, J. Menezes [et al.]. // J Tissue Eng Regen Med. – 2022. – Vol. 16(10). – P. 900-912. <https://doi.org/10.1002/term.3337>.

229. The role of platelet rich plasma in musculoskeletal science / Z. Ahmad, D. Howard, R. Brooks [et al.]. // JRSMS Short Reports. – 2012. – Vol. 3 (6). – P. 1–9. [doi:10.1258/shorts.2011.011148](https://doi.org/10.1258/shorts.2011.011148).

230. Therapeutic effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in acute lung injury mice / H. Zhu, Y. Xiong, Y. Xia [et al.]. // Sci Rep. – 2017. – Vol. 7. – P. 39889. <https://doi.org/10.1038/srep39889>.

231. Therapeutic role of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on skin burn healing and rejuvenation: a focus on scar regulation, oxido-inflammatory stress and apoptotic mechanisms / B. Tammam, O. Habotta, M. El-Khadragy [et al.]. // *Heliyon* – 2023. – Vol. 9(9). – P. e19452.

232. Thoracic empyema: a 12-year study from a UK tertiary cardiothoracic referral centre / D.J. Marks, M.D. Fisk, C.Y. Koo [et al.]. // *PLoS One*. – 2012. – Vol.7. – P.30074.

233. Thoracotomy versus video-assisted thoracoscopic surgery (VATS) in stage III empyema – an analysis of 217 consecutive patients / M. Reichert, Pösentrup, B. Hecker, A. [et al.]. // *Surg Endosc*. – Vol. 32. – 2018. – P. 2664–2675 <https://doi.org/10.1007/s00464-017-5961-7>.

234. Tokunaga, Y. Analysis of risk factors for bronchopleural fistula after surgical treatment of lung cancer / Y. Tokunaga, Y. Kita, T. Okamoto // *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. – 2020. – Vol. 26 (6). – P. 311–319. <https://doi.org/10.5761/atcs.oa.20-00010>

235. Treatment of bronchial anastomotic fistula using autologous platelet-rich plasma post lung transplantation / A. Siddique, B. N. Sabbah [et al.]. // *J Cardiothorac Surg*. 2022. – Vol. 17 (1). – P. 204. <https://doi.org/10.1186/s13019-022-01965-w>.

236. Treatment of chronic non-healing ulcers using autologous platelet rich plasma: a case series / M. Suthar, S. Gupta, S. Bukhari [et al.]. // *J Biomed Sci*. – 2017. – Vol. 24 (1). – P. 16. <https://doi.org/10.1186/s12929-017-0324-1>.

237. Treatment of post-ablation bronchopleural fistula using percutaneous synthetic hydrogel surgical sealant: initial experience of safety and efficacy / P. Shahrouki, J. Barclay, S. Khan [et al.]. *CardioVascular and Interventional Radiology*. – 2021. – Vol. 44 (2). – P. 325–332. <https://doi.org/10.1007/s00270-020-02691-3>.

238. Treatment of two cases of bronchopleural fistula with atrial septal occluder placement through bronchoscopy / G. Lin, P. Chen, G. Ye [et al.]. // *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Sciences*. – 2018. – Vol. 41 (2). – P. 153–155.

239. U.K. controlled trial of intrapleural streptokinase for pleural infection / N. A. Maskell, C.W.H. Davies, A.J. Nunn [et al.]. // *N. Engl. J. Med*. – 2005. – Vol.352. – P.865–874.

240. Ualikhanov, A. Endoscopic closure of the fistula stump of the bronchus after pneumonectomy / U. Ualikhanov, K. Batyrbekov // *Respir Med Case Rep.* – 2020. – Vol. 31. – P. 101–249. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2020.101249>.

241. Uchibori, A. Omental flap for bronchopleural fistula after pneumonectomy and aorta replacement / A. Uchibori, S. Okada, N. Takeda-Miyata // *Ann Thorac Surg.* – 2020. – Vol. 109 (5). – P. e349–e351. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2019.08.079>

242. Use of an amplatzer device for endoscopic closure of a large bronchopleural fistula following lobectomy for a stage I squamous cell carcinoma / A. Ottevaere, H. Slabbynck, P. Vermeersch [et al.]. // *Case Reports in Oncology.* – 2013. – Vol. 6 (3). – P. 550–554. <https://doi.org/10.1159/000356444>.

243. Vacuum-assisted closure device: a useful tool in the management of severe intrathoracic infections / A. Saadi, J. Y. Perentes, M. Gonzalez [et al.]. // *Ann Thorac Surg.* – 2011. – Vol. 91 (5). – P. 1582-9. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.01.018>.

244. Villaschi, S. Paracrine interactions between fibroblasts and endothelial cells in a serum-free coculture model. Modulation of angiogenesis and collagen gel contraction / S. Villashi, R. Nicosia // *Lab Invest.* – 1994. – Vol. 71 (2). – P. 291–9.

245. Vitacolonna, M. Transplanted fibroblasts proliferate in host bronchial tissue and enhance bronchial anastomotic healing in a rodent model. M. Vitacolonna, F. Doyon, D. Belharazem // *Int J Artif Organs.* – 2017. – Vol. 40 (9). – P. 515–521. <https://doi.org/10.5301/ijao.5000601>.

246. Wait, M. A. A randomized trial of empyema therapy / M.A. Wait, S. Sharma, J. Hohn [et al.]. // *Chest.* – 1997. – Vol. 111. – P. 1548–1551.

247. Wang, H. Effect analysis of two cases of bronchial stump thoracic fistula treated with atrial septal defect occluder / H. Wang, N. Zhang, D. Li // *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Sciences.* – 2017. – Vol. 40 (4). – P. 314–315.

248. Wang, Y. Long-term follow up and comparison between conservative and interventional therapy in postoperative bronchopleural fistula – a cohort study/ Y. Wang, M. Zhu, Y. Pan, K. Yu // *J Thorac Dis.* – 2023. – Vol. 15 (3). – P. 1210–1216. <https://doi.org/10.21037/jtd-22-1426>.

249. Wang, Y. Treat bronchopleural fistula after right lower lobectomy by extra right middle lobectomy – a neglected approach / Y. Wang, W. Zhuang // *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* – 2020. – Vol. 31 (1). – P. 63–70. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivaa050>.

250. Wound Healing: Current Biology / K. Bullard, M. Longaker, H. Fetal [et al]. // *World J. Surg.* – 2003. – Vol. 27. – P. 54–61. <https://doi.org/10.1007/s00268-002-6737-2>.

251. Xiao, Z. Application of 3D printing imaging technology for personalized bronchial occluder treatment of bronchopleural fistula Chinese / Z. Xiao, J. Gao, J. Liu // *Community Physician.* – 2022. – Vol. 38 (16). – P. 6–8.

252. You, H. Cell therapy for wound healing / H. You, S. Han // *J Korean Med Sci.* – 2014. – Vol. 29 (3). – P. 311–319. <https://doi:10.3346/jkms.2014.29.3.311>.

253. Yun, M. Surgical options for malignant skin tumors of the hand / *Arch Plast Surg* // M. Yun, J. Park, S. Kwon. – 2013. – Vol. 40. – P. 238–243.

254. Zanotti, G. Bronchopleural Fistula and Empyema After Anatomic Lung Resection / G. Zanotti, J. Mitchell // *Thorac Surg Clin.* – 2015. – Vol. 25 (4). – P. 421–427. [/10.1016/j.thorsurg.2015.07.006](https://doi.org/10.1016/j.thorsurg.2015.07.006).

255. Zhang, L. Advances in wound repair and regeneration: Systematic comparison of cell free fat extract and platelet rich plasma / L. Zhang, C. Hu, W. Xu // *Front. Chem.* – 2022. – Vol. 10. – P. 1089277. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1089277>

256. Zhang, Y. Efficacy of cellular therapy for diabetic foot ulcer: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials / Y. Zhang, H. Deng, Z. Tang // *Cell transplantation.* – 2017. – Vol. 26 (12). – P. 1931–1939. <https://doi.org/10.1177/0963689717738013>.

257. Zhao, P. Progress report on interventional treatment for bronchopleural fistula / P. Zhao // *Emerg. Med Int.* – 2023. – P. 8615055. <https://doi.org/10.1155/2023/8615055>.

СПИСОК ИЛЛЮСТРИРОВАННОГО МАТЕРИАЛА

Рисунок 1. КТ-признаки бронхоплеврального свища.....	23
Рисунок 2. Анатомическая диссекция, представляющая нормальную анатомию бронхиального дерева.....	26
Рисунок 3. Гистология бронха.....	27
Рисунок 4. Основные механизмы действия фибробластов.....	31
Рисунок 5. Анатомия трахеобронхиального дерева.....	33
Рисунок 6. Культя бронха менее 1см.....	37
Рисунок 7. Дизайн исследования.....	76
Рисунок 8. Циркулярная резекция трахеи.....	81
Рисунок 9. Пневмонэктомия.....	82
Рисунок 10. Способ введения клеточного препарата через фибробронхоскоп.....	88
Рисунок 11. Фото этапов операции по наложению вакуум-ассистированной повязки в полость эмпиемы.....	96
Рисунок 12. Механизм действия введенных извне фибробластов.....	102
Рисунок 13. Процесс подготовки культуры фибробластов.....	103
Рисунок 14. Контроль качества аллогенных дермальных фибробластов	104
Рисунок 15. Контроль качества аллогенных дермальных фибробластов. Иммунофенотипирование.....	104
Рисунок 16. Механизм действия активированных фибробластов.....	105
Рисунок 17. Процесс получения аутологичной ОБТП.....	107
Рисунок 18. Сравнительный анализ содержания тромбоцитов в цельной крови после двукратного центрифугирования.....	107
Рисунок 19. Контроль стерильности.....	108
Рисунок 20. Диаграммы изменения концентрации различных факторов роста в исходной цельной крови, ПК, ОБТП и в готовом продукте – ЛТ...	108
Рисунок 21. Гистологическое исследование опытной группы, 3-и сутки...	114

Рисунок 22. Гистологическое исследование контрольной группы, 3-и сутки.....	114
Рисунок 23. Гистологическое исследование опытной группы, 7-е сутки	115
Рисунок 24. Гистологическое исследование опытной группы, зона введения клеток, 7-е сутки.....	116
Рисунок 25. Иммуногистохимическая реакция. Зона введения клеток, 7-е сутки.....	117
Рисунок 26. Гистологическое исследование контрольной группы, 7-е сутки.....	118
Рисунок 27 Гистологическое исследование опытной группы, 14-е сутки	118
Рисунок 28. Иммуногистохимическая реакция в опытной группе, 14-е сутки	119
Рисунок 29. Гистологическое исследование контрольной группы, 14-е сутки	120
Рисунок 30. Иммуногистохимическая реакция в контрольной группе, 14-е сутки.....	121
Рисунок 31. Гистологическое исследование опытной группы, 21-е сутки	122
Рисунок 32. Иммуногистохимическая реакция в контрольной группе, 14-е сутки.....	122
Рисунок 33. Гистологическое исследование контрольной группы, 21-е сутки.....	123
Рисунок 34. Иммуногистохимическая реакция в контрольной группе, 21-е сутки.....	124
Рисунок 35. Гистологическое исследование опытной группы через 3 месяца	125
Рисунок 36. Динамика изменений концентрации PDGF в разные дни наблюдения в обеих группах.....	128
Рисунок 37. Динамика изменений концентрации VEGF в разные дни наблюдения в обеих группах.....	128

Рисунок 38. Динамика изменений концентрации FGF в разные дни наблюдения в обеих группах.....	129
Рисунок 39. Динамика изменений концентрации MMP-9 в разные дни наблюдения в обеих группах.....	130
Рисунок 40. Динамика изменений концентрации MMP-2 в разные дни наблюдения в обеих группах.....	131
Рисунок 41. Время выявления бронхиального свища	138
Рисунок 42. Время заживления свища.....	140
Рисунок 43. ФБС. Эндоскопическая картина бронха в разные сроки наблюдения.....	142
Рисунок 44. Рентгенологическая картина несостоятельности культи бронха и эмпиемы плевры после левосторонней пневмонэктомии.....	143
Рисунок 45. ФБС. Эндоскопическая картина бронха в разные сроки наблюдения	144
Рисунок 46. Компьютерная томограмма органов грудной клетки (аксиальный срез) после левосторонней пневмонэктомии.....	145
Рисунок 47. ФБС. Эндоскопическая картина.....	146
Рисунок 48. КТ органов грудной клетки (аксиальный срез).....	147
Рисунок 49. ФБС. Эндоскопическая картина через 7 месяцев.....	147
Рисунок 50. Время манифестации бронхиальных свищей в контрольной группе.....	151
Рисунок 51. Динамика изменений концентрации FGF в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах.....	158
Рисунок 52. Динамика изменений концентрации PDGF в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах.....	159
Рисунок 53. Динамика изменений концентрации VEGF в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах.....	160
Рисунок 54. Динамика изменений концентрации TNF α в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах.....	160

Рисунок 55. Динамика изменений концентрации IL-8 в разные дни наблюдения после диагностики БС в обеих группах.....	161
Рисунок 56. Морфологическая картина области дефекта, 1-е сутки.....	163
Рисунок 57. Морфологическая картина области дефекта, зона введения клеточного препарата через 8 дней от начала терапии	163
Рисунок 58. Морфологическая картина области дефекта контрольной группы через 14 дней от момента диагностики БС.....	164
Рисунок 59. Динамика медиаторов при профилактическом применении клеточного препарата в периферической крови.....	168
Рисунок 60. Динамика медиаторов при профилактическом применении клеточного препарата в смывах из культуры бронха.....	169
Рисунок 61. КТ органов грудной полости (аксиальные срезы)	173
Рисунок 62. Рентгенологическая картина постпневмонической деструкции легкого.....	174
Рисунок 63. Рентгенологическая картина. Деструкция легкого с эмпиемой плевры.....	174
Рисунок 64. Несостоятельность бронхиального анастомоза после верхней лобэктомии.....	175
Рисунок 65. КТ после пневмонэктомии (аксиальные срезы)	179
Рисунок 66. Рентгенограммы органов грудной клетки в прямой проекции	180
Рисунок 67. Нагноение раны и эмпиемы плевры.....	181
Рисунок 68. Лечение эмпиемы плевры с помощью ВАП	183
Рисунок 69. Клинический случай №1.....	184
Рисунок 70. Клинический случай №2.....	185
Рисунок 71. Клинический случай № 3.....	186
Рисунок 72. Фото этапов операций	187
Рисунок 73. Алгоритм ведения пациента с постпневмонэктомической эмпиемой плевры без свища главного бронха	189
Таблица 1. Факторы риска развития бронхиальных свищей.....	34

Таблица 2. Сравнительный анализ современных методов лечения свищей верхних дыхательных путей.....	45
Таблица 3. Запатентованные методики лечения БС в РФ.....	51
Таблица 4. Текущие клинические исследования по изучению терапевтического потенциала клеточных технологий в лечении свищей верхних дыхательных путей	71
Таблица 5. Экспериментальное исследование на животных.....	80
Таблица 6. График забора периферической крови и выведения из эксперимента.....	84
Таблица 7. Лабораторные исследования, проводимые в до- и послеоперационном периодах.....	90
Таблица 8. Наименование реагентов для ИФА.....	93
Таблица 9. Характеристики пациентов основной и контрольной групп...	94
Таблица 10. Технологические особенности получения клеточных препаратов.....	100
Таблица 11. Динамика изменения температуры в разные дни наблюдения.....	111
Таблица 12. Динамика частоты дыхания в разные дни наблюдения.....	112
Таблица 13. Динамика концентраций биологически активных веществ в опытной и контрольной группах (Me [Q1; Q3]).....	126
Таблица 14. Характеристика пациентов основной группы.....	134
Таблица 15. Распределение пациентов с раком легкого по стадиям опухолевого процесса.....	136
Таблица 16. Виды оперативных вмешательств.....	137
Таблица 17 Характеристика пациентов контрольной группы.....	148
Таблица 18. Спектр оперативных вмешательств в контрольной группе.....	150
Таблица 19. Сравнительная характеристика основной и контрольной групп.....	154
Таблица 20. Результаты лечения БС и течения заболевания.....	155

Таблица 21. Сравнение вариантов первичных операций между группой с применением клеточного препарата с БС и группой с интраоперационным введением.....	166
Таблица 22. Сравнение частоты прогрессирования рака легкого.....	170
Таблица 23. Спектр заболеваний и состояний, повышающих риск бронхоплевральных постпневмонэктомических осложнений.....	173
Таблица 24. Технические особенности и локальные изменения при выполнении операций в двух группах пациентов.....	176
Таблица 25. Характер послеоперационных осложнений в контрольной и основной группах больных.....	177

ПРИЛОЖЕНИЯ

Протокол выдачи

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ
1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар, 350086
тел: (861) 252-85-91, 252-73-02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail:kkb1@mail.ru
ИНН 2311040088

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач
В.А. Порханов

« 2 » апреля 2019 г.

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ –
КРАЕВАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

**Лаборатория разработки и изучения новых технологий лечения заболеваний
ПРОТОКОЛ ВЫДАЧИ**

в отделение _____

ФИО пациента: _____

№ истории болезни _____ Возраст _____ Пол _____

Диагноз: _____

Выдано:

1. Лизат тромбоцитов аутологичный _____ 2 мл, ID № _____ от (дата заготовки): _____
2. Фибробласты человека аллогенные, в количестве 2×10^6 в 2мл 0,9% раствора NaCl, ID донора _____ № пассажа _____ от (дата заготовки): _____

Компоненты клеточного препарата приготовлены согласно стандартным процедурам в стерильных условиях.

Дата _____

Подпись лица, выполнившего процедуру _____

Главный врач

ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»



Порханов В.А.

Протокол введения (эндоскопический способ)

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ
1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар, 350086
тел: (861) 252-85-91, 252-73-02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail: kkb1@mail.ru
ИНН 2311040088

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач
В.А. Порханов

« 2 » апреля 2019 г.

ПРОТОКОЛ ВВЕДЕНИЯ

клеточного препарата по протоколу научно-исследовательской работы
№02-2019

Способ введения через бронхоскоп:

Из Лаб РИНТ получен упакованный регенеративный продукт. Проверено наличие идентификационной этикетки на крафтовом пакете (вторичная упаковка). Затем крафтовый пакет вскрыт. Пробирки (первичная упаковка) с клеточным препаратом извлечены на стерильный стол. Проверено наличие идентификационной этикетки на пробирках (клеточный препарат, состоящий из аутологичного лизата тромбоцитов 2мл и аллогенных дермальных фибробластов 2 мл ID № ____). Содержимое пробирок набрано в шприц, объемом 5 мл, подсоединили к эндоскопическому инъектору. По периметру свища выполнено 4-6 инъекций в подслизистый слой, отступив 1-2 мм от края свища на глубину 1 мм на одинаковом расстоянии друг от друга.



Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»

Порханов В.А.

Протокол введения (интраоперационный способ)

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ
1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар, 350086
тел: (861) 252-85-91, 252-73-02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail:kkb1@mail.ru
ИНН 2311040088

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач
В.А. Порханов

« 2 » апреля 2019 г.

ПРОТОКОЛ ВВЕДЕНИЯ

клеточного препарата по протоколу научно-исследовательской работы
№02-2019

Интраоперационно:

Из Лаборатории РИНГ получен упакованный клеточный препарат. Проверено наличие идентификационной этикетки на крафтовом пакете (вторичная упаковка). Затем крафтовый пакет вскрыт. Пробирки (первичная упаковка) с клеточным препаратом (состоящий из аллогенных дермальных фибробластов 2 мл и аутологичного лизата тромбоцитов 2 мл) извлечены на стерильный стол. Проверено наличие идентификационной этикетки на пробирках. Содержимое пробирок набрано в шприц, объемом 1 мл. Содержимое шприцов введено в культю бронха в подслизистый слой отступив 1-2 мм от края культуры на глубину 1 мм на одинаковом расстоянии друг от друга.

Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»



Порханов В.А.

Спецификация

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ
1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар, 350086
тел: (861) 252 85 91, 252 73 02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail kkb1@mail.ru
ИПН 2311040088

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный врач
В.А. Порханов

« 2 » апреля 2019 г.

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ –
КРАЕВАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Спецификация на биомедицинский клеточный продукт
Аллогенные фибробласты дермальные человеческие

№ п/п	Показатель/метод	Характеристика
1.	Дата составления	
2.	Наименование	фибробласты дермальные человеческие
3.	Назначение	фибробласты дермальные человеческие применяются для лечения заболеваний, травм, связанных с повреждением кожного покрова.
4.	Тип	Аллогенный биомедицинский клеточный продукт
5.	Показания к применению	фибробласты дермальные человеческие применяются для лечения термических ожогов 2-3 степени, послерубцовых атрофических изменений кожи, трофических нарушений кожного покрова, кожных и иных свищей.
6.	Способ и кратность применения	Расчет дозы БМКП осуществляется на основе следующего пошагового подхода: определение индивидуальной потребности в БМКП, расчет и назначение дозы в зависимости от повреждения. Для однократного применения.
7.	Биологические и иные характеристики	Биомедицинский клеточный продукт способствует лучшей регенерации ткани за счет синтеза факторов роста, экстрацеллюлярного матрикса, стимуляции пролиферации собственного эпителия,

		направленного на восстановление эпителиальной и соединительной ткани
8.	Вид донорства биологического материала	прижизненное
9.	Наименование производителя (разработчика)	Лаборатория разработки и изучения новых методов лечения заболевания ГБУЗ «НИИ-ККБ№1»
10.	Качественный и количественный состав	Раствор: Действующее вещество: одна клеточная линия «аллогенные фибробласты дермальные человеческие» 6 млн клеток, количество жизнеспособных клеток составляет не менее 94%. Вспомогательное вещество: раствор натрия хлорида 0,9% до 10 мл.
11.1.	Наименование и происхождение клеточной линии	Аллогенные фибробласты дермальные человеческие, происхождение - биопсия кожного лоскута, размер 1,5x1,5 см, толщиной 2 мм.
11.2.	Идентичность (подлинность) клеточной линии	Идентичность (подлинность) клеточной линии охарактеризована и подтверждена с помощью морфологического, иммуноцитохимического, генетического исследований, иммунофенотипирования методом проточной цитометрии: монослойная культура, клетки вытянутой формы, наличие поверхностных маркеров CD90+ (не менее 95%), CD73+ (не менее 95%), CD105+ (не менее 95%), CD34 (не более 5%), виментин +, ki67-, нормальный кариотип человека, допустимое количество aberrаций – 5%.
11.3.	Уровень экспрессии белка клеточной линии, определяющий активность	-
11.4.	Наличие и характер генетической модификации клеточной линии, использованные генетические конструкции	-

Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»



Порханов В.А.

Патенты на изобретения

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ
НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2691323

**СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ БРОНХИАЛЬНЫХ СВИЩЕЙ,
ВОЗНИКШИХ ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИОННЫХ ОПЕРАЦИЙ
НА ЛЕГКИХ**

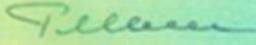
Патентообладатели: *Государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Научно-исследовательский институт - Красная клиническая больница N 1 имени профессора С.В. Очаповского" Министерства здравоохранения Краснодарского края (ГБУЗ "НИИ-ККБ N 1 им. проф. С.В. Очаповского") (RU), Коваленко Алексей Львович (RU), Порханов Владимир Алексеевич (RU), Поляков Игорь Станиславович (RU), Гилевич Ирина Валериевна (RU), Федоренко Татьяна Владимировна (RU), Коломийцева Елена Анатольевна (RU), Мунтян Ирина Николаевна (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2018115469
Приоритет изобретения 24 апреля 2018 г.
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 11 июня 2019 г.
Срок действия исключительного права на изобретение истекает 24 апреля 2038 г.



Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

 **Г.П. Налиев**

Акты об использовании предложений



УТВЕРЖДАЮ

Главный врач государственного
бюджетного учреждения
здравоохранения «Клинический
противотуберкулезный диспансер»
министерства здравоохранения
Краснодарского края


А.И. Шевченко
« 1 » Инварь 2025г.

АКТ

об использовании предложения

1. Наименование предложения: «Использование вакуум-ассистированной повязки для профилактики и лечения постпневмонэктомической эмпиемы остаточной плевральной полости».
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: докторская диссертация: «Инновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)».
3. Автор предложения: 1-й заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующий отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, к.м.н. Поляков И.С.
4. Предложение используется в туберкулезном хирургическом отделении № 1 государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Клинический противотуберкулезный диспансер» министерства здравоохранения Краснодарского края с 2025 года.
5. Эффективность предложения: разработанный способ применения вакуумассистированной повязки используется для профилактики и лечения возникновения постпневмонэктомической эмпиемы плевры у пациентов групп высокого риска по развитию несостоятельности культи бронха. Разработанный способ позволяет повысить эффективность профилактики и лечения постпневмонэктомической эмпиемы остаточной плевральной полости и избежать развития неблагоприятных осложнений.

Заведующий отделением туберкулезного
хирургического отделения № 1 /  А.Ю. Кручиненко

Автор предложения:
заведующий отделением, к.м.н., доцент /  / И.С. Поляков

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар. 350086
Краснодарский край, Российская Федерация
тел: (861) 252-95-58, 252-73-02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail:kkb1@mail.ru
ИНН 2311040088
от _____ № _____

на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»
/В.А. Порханов/
« 11 » Мая 2024 г.

АКТ

об использовании предложения

1. Наименование предложения: «Способ лечения бронхиальных свищей, возникших после резекционных операций на легких».
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: докторская диссертация «Инновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)».
3. Автор предложения: 1-й заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующий отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, к.м.н. Поляков И.С.
4. Предложение используется в отделении торакальной онкологии с 01 сентября 2023 года.
5. Эффективность предложения: разработанный способ эндоскопического введения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов используется для лечения бронхиальных свищей разного размера. Клеточный препарат может быть применен для интраоперационного введения в зону анастомоза бронха и культю бронха для профилактики развития несостоятельности анастомоза в послеоперационном периоде. Разработанный способ позволяет повысить эффективность лечения больных и избежать развития неблагоприятных осложнений.

Заведующий отделением
торакальной онкологии

/_____/

/А.Л. Коваленко /

Автор предложения:
заведующий отделением,
к.м.н., доцент

/_____/

/И.С. Поляков/

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар, 350086
Краснодарский край, Российская Федерация
тел: (861) 252-95-58, 252-73-02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail:kkb1@mail.ru
ИНН 2311040088

от _____ № _____

на № _____ от _____

УТВЕЖДАЮ
Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»
/В.А. Порханов/
«11» ноября 2024 г.

АКТ

об использовании предложения

1. Наименование предложения: «Способ лечения бронхиальных свищей, возникших после резекционных операций на легких».
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: докторская диссертация «Инновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)».
3. Автор предложения: 1-й заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующий отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, к.м.н. Поляков И.С.
4. Предложение используется в отделении торакальной хирургии №2 с 01 июля 2022 года.
5. Разработанный способ эндоскопического введения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов используется для лечения бронхиальных свищей разного размера. Клеточный препарат может быть применен для интраоперационного введения в зону анастомоза бронха и культю бронха для профилактики развития несостоятельности анастомоза в послеоперационном периоде. Разработанный способ позволяет повысить эффективность лечения больных и избежать развития неблагоприятных осложнений.

Заведующий отделением
торакальной хирургии №1



/А.Л. Коваленко /

Автор предложения:
заведующий отделением,
к.м.н., доцент



/И.С. Поляков/

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар, 350086
Краснодарский край, Российская Федерация
тел: (861) 252-95-58, 252-73-02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail:kkb1@mail.ru
ИНН 2311040088

от _____ № _____

на № _____ от _____

УТВЕЖДАЮ
Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»
В.А. Порханов

«14» ноября 2024 г.

АКТ

об использовании предложения

1. Наименование предложения: «Способ лечения бронхиальных свищей, возникших после резекционных операций на легких».

2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: докторская диссертация «Инновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)».

3. Автор предложения: 1-й заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующий отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, к.м.н. Поляков И.С.

4. Предложение используется в отделении торакальной хирургии №2 с 01 июля 2022 года.

5. Разработанный способ эндоскопического введения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов используется для лечения бронхиальных свищей разного размера. Клеточный препарат может быть применен для интраоперационного введения в зону анастомоза бронха и культю бронха для профилактики развития несостоятельности анастомоза в послеоперационном периоде. Разработанный способ позволяет повысить эффективность лечения больных и избежать развития неблагоприятных осложнений.

Заведующий отделением
торакальной хирургии №2



/А.А. Сирота /

Автор предложения:
заведующий отделением,
к.м.н., доцент



/И.С. Поляков/

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
**«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ - КРАЕВАЯ
КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА №1
ИМЕНИ ПРОФЕССОРА
С.В. ОЧАПОВСКОГО»**
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

1 Мая ул., д. 167, г. Краснодар, 350086
Краснодарский край, Российская Федерация
тел: (861) 252-95-58, 252-73-02
факс: (861) 252-82-17, 215-35-12
e-mail: kkb1@mail.ru
ИНН 2311040088
от _____ № _____

на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ
Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»
/В.А. Порханов/
«11» мая 2024 г.

АКТ

об использовании предложения

1. Наименование предложения: «Способ лечения бронхиальных свищей, возникших после резекционных операций на легких».
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: докторская диссертация «Инновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)».
3. Автор предложения: 1-й заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующий отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, к.м.н. Поляков И.С.
4. Предложение используется в отделении торакальной хирургии №2 с 01 июля 2022 года.
5. Разработанный способ эндоскопического введения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов используется для лечения бронхиальных свищей разного размера. Клеточный препарат может быть применен для интраоперационного введения в зону анастомоза бронха и культю бронха для профилактики развития несостоятельности анастомоза в послеоперационном периоде. Разработанный способ позволяет повысить эффективность лечения больных и избежать развития неблагоприятных осложнений.

Заведующий отделением
торакальной хирургии №2

/  /

/А.А. Сирота /

Автор предложения:
заведующий отделением,
к.м.н., доцент

/  /

/И.С. Поляков/

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
медицинской приматологии»
(ФГБНУ «НИИ МП»)

ОКПО 21056447 ОГРН 1022302721484ИНИ/КПП
2317006252/231701001

Российская Федерация, 354376, Краснодарский край,
г. Сочи, Адлерский р-н, с. Веселое, ул. Мира, д. 177
Тел./факс (862) 243-24-08, e-mail:
mail@primatologia.ru, web www.primatologia.ru



ПОТВЕРЖДАЮ

Директор профессор
член-корр. РАН Орлов С.В.

«18» янв. 2023 г.

**АКТ
О внедрении**

1. Наименование предложения: «Создание экспериментальной модели на крупном животном с использованием клеточных технологий».
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: докторская диссертация: «Иновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)».
3. Автор предложения: 1-й заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующий отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, к.м.н. Поляков И.С.
4. Предложение используется в лаборатории доклинических исследований НИИ медицинской приматологии с 2023 года.
5. Эффективность предложения: разработанная модель фистулы главного бронха с последующим методом закрытия используется в экспериментах на приматах с целью исследования новых средств регенерации тканей культи бронха

Руководитель лаборатории доклинических исследований
НИИ медицинской приматологии
к.м.н. Д.Д.Карал-оглы

УТВЕРЖДАЮ

Главный врач

С.Ю. Пушкин

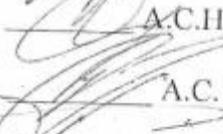


«1» января 2025 г.

АКТ об использовании предложения

1. Наименование предложения: «Использование вакуум-ассистированной повязки для профилактики и лечения постпневмоэктомической эмпиемы остаточной плевральной полости».
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: докторская диссертация: «Инновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)».
3. Автор предложения: 1-й заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующий отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, к.м.н. Поляков И.С.
4. Предложение используется в хирургическом торакальном отделении ГБУЗ «Самарская областная клиническая больница им. В.Д. Серedaвина» с 2024 года.
5. Эффективность предложения: разработанный способ применения вакуумассистированной повязки используется для профилактики и лечения возникновения постпневмоэктомической эмпиемы плевры у пациентов группы высокого риска по развитию несостоятельности культи бронха. Разработанный способ позволяет повысить эффективность профилактики и лечения постпневмоэктомической эмпиемы остаточной плевральной полости и избежать развития неблагоприятных осложнений.

Заведующий хирургическим торакальным отделением  А.П. Решетов

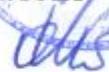
Заместитель главного врача по хирургии  А.С. Навасардян

Заместитель главного врача по науке  А.С. Беньян

федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ОНКОЛОГИИ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России)

344037, г. Ростов - на - Дону, 14-я линия, 63, тел./факс: (863) 300-30-05, тел. 253-81-90
ОКПО 01966791, ОГРН 1026104161423, ИНН/КПП 6167034142/616701001

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ФГБУ «НМИЦ онкологии»
Минздрава России,
д.м.н., профессор
академик РАН

 Кит О.И.

« 04 » 09 2025 г.

АКТ

о внедрении результатов научного исследования

Акт составлен в отделе подготовки и переподготовки специалистов,
акт № 01/25 от 28.08.2025 г.

Мы, нижеподписавшиеся, члены комиссии, созданной в соответствии с приказом директора от 22.09.2023 г., № 121, в составе: заместителя генерального директора по клинико-экспертной работе Фоменко Ю.А. (председателя комиссии), заместителя генерального директора по перспективным научным разработкам Максимов А.Ю., заместителя генерального директора по науке Новиковой И.А., заместителя генерального директора по науке Франциянц Е.М., заместителя генерального директора по экономическим вопросам Энговатовой А.А., ученого секретаря Дженковой Е.А., главного врача Маслова А.А., главного бухгалтера Кармеевой М.В. (членов комиссии), в присутствии разработчика двух способов - к.м.н. Полякова Игоря Станиславовича, первого заместителя главного врача ГБУЗ «НИИ-ККБ №1», заведующего отделением гематологии и противоопухолевой лекарственной терапии, доцента кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, составили настоящий акт о нижеследующем:

- в рамках докторской диссертации «Инновационная профилактика и хирургия послеоперационных свищей бронхов и трахеи (экспериментально-клиническое исследование)» Поляковым И.С. разработаны:

- способ применения вакуумассистированной повязки для профилактики и лечения возникновения постпневмонэктомической эмпиемы плевры у онкологических пациентов групп высокого риска по развитию несостоятельности культи бронха, позволяющий повысить эффективность профилактики и лечения постпневмонэктомической эмпиемы остаточной плевральной полости и избежать развития неблагоприятных осложнений у пациентов, оперированных по поводу рака легкого;

- способ эндоскопического введения клеточного препарата на основе аллогенных дермальных фибробластов и аутологичного лизата тромбоцитов используется для лечения бронхиальных свищей разного размера. Клеточный препарат может быть применен для интраоперационного введения в зону анастомоза бронха и культи бронха для профилактики развития несостоятельности анастомоза в послеоперационном периоде. Разработанный способ позволяет повысить эффективность лечения больных и избежать развития неблагоприятных осложнений.

Способ внедрен в деятельность отделения торакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России.

Генеральный директор



О.И. Кит