

DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.3\(54\).2022.7](https://doi.org/10.34287/MMT.3(54).2022.7)

М. М. Милиця, В. В. Солдусова, К. М. Милиця, В. В. Стеблянко, В. С. Казаков, М. Д. Постоленко
Державний заклад «Запорізька медична академія післядипломної освіти Міністерства охорони здоров'я України»
Запоріжжя, Україна

M. M. Militsa, V. V. Soldusova, K. M. Militsa, V. V. Steblyanko, V. S. Kazakov, M. D. Postolenko
State Institution «Zaporizhzhia Medical Academy of post-graduate education Ministry of Health of Ukraine»
Zaporizhzhia, Ukraine

СТИМУЛЯЦІЯ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ ПРИ ДОВГОТРИВАЛО НЕЗАГОЄНИХ РАНАХ У ПАЦІЄНТІВ ІЗ СИНДРОМОМ ДІАБЕТИЧНОЇ СТОПИ

Stimulation of the wound process in long-term unhealed wounds in patients with diabetic foot syndrome

Реферат

Abstract

Мета роботи. Порівняти ефективність застосування PRP та загально прийнятих методів місцевої терапії при довготривало незагоєних ранах у пацієнтів із синдромом діабетичної стопи.

Матеріали та методи. Проведено дослідження у 33 пацієнтів з довготривало незагоєними ранами на стопі та гоміліці при невропатичній формі СДС. Пацієнти розподілені на дві групи в залежності від характеру отриманої терапії – PRP та місцева терапія за загальноприйнятими принципами. Ефективність терапії оцінювали за характером змін мікрофлори та в клітинному складі рани, а також площі ранової поверхні у 1-й день, 8-й та 22-й після початку лікування.

Результати. Застосування PRP дозволило на 8-й день спостерігати регенераторно-запальний тип цитограми, мати прояви васкуляризації та епітелізації, зменшити кількість пацієнтів з інфікованими ранами у 2,7 рази та зменшення площі ранової поверхні на 1,7 см², що у 3,4 рази більше ніж у другій групі (на 0,5 см²). Введення другої дози PRP ще більше стимулює репаративні зміни у рані, що проявляться регенеративним типом цитограми, зменшенням чисельності інфікованих ран у 8 разів, та скороченням площі ранової поверхні у 2 рази від першого вимірювання, тоді як у другій групі тільки на 22-й день відмічали позитивні зміни, які були характерні для першої групи вже на 8-й день.

Висновок. Таким чином, застосування PRP у терапії довготривало незагоєваних ран при СДС є перспективним напрямком регенераторної терапії. PRP це спосіб отримання природної

The purpose of the study. Compare the effectiveness of PRP and general accepted methods of local therapy for long-term unhealed wounds in patients with diabetic foot syndrome.

Materials and methods. A study was performed in 33 long-term patients unhealed wounds on the foot and leg in the neuropathic form of diabetic foot syndrome. Patients were divided into two groups depending on the nature of the received therapies – PRP and local therapy according to generally accepted principles. The effectiveness of therapy was assessed by the nature of changes in the microflora and c wound cell composition, as well as wound surface area on the 1st day, 8th and 22nd after starting treatment.

Results. The use of PRP allowed to observe on the 8th day regenerative-inflammatory type of cytogram, have manifestations of vascularization and epithelialization, reduce the number of patients with infected wounds by 2,7 times and reducing the wound surface area by 1,7 cm², which is 3,4 times more than in the second group (0,5 cm²). The introduction of the second dose of PRP is even more stimulating reparative changes in the wound, manifested by the regenerative type of cytogram, reducing the number of infected wounds by 8 times, and reducing the area wound surface 2 times from the first measurement, while in the second group only on the 22nd day there were positive changes that were characteristic of the first group on the 8th day.

Conclusion. Thus, the use of PRP in therapy is long unhealed wounds in diabetic foot syndrome, is a promising area of regenerative therapy. PRP is

концентрації власних факторів росту з мінімальною інвазивністю та малими затратами. Запропонований метод біологічної терапії у таких пацієнтів є простим та доступним як для пацієнта, так і для лікаря.

Ключові слова: довготривало незагоювана рана, рановий дефект, діабетична стопа, тромбоцитарно-збагачена плазма (PRP), місцева терапія.

a way to obtain a natural concentration of internal factors of growth with minimal invasiveness and low costs. Proposed method of biological therapy in such patients is simple and affordable for both patient and for the doctor.

Keywords: Long-term unhealed wound, wound defect, diabetic foot, platelet-enriched plasma (PRP), local therapy.

ВСТУП

Синдром діабетичної стопи (СДС) – одне з найбільш важких ускладнень цукрового діабету (ЦД), який може призвести до ампутації кінцівки.

Розповсюдженість виразкових уражень стоп у пацієнтів з ЦД варіює від 2,3 до 12%, частота ампутацій на рівні стопи складає в середньому 3,1 на 1000 хворих, на рівні гомілки – 3,6 на 1000 [2, 5, 11, 16].

Порушення у рановому процесі у пацієнтів з СДС, пов'язано з етіопатогенетичними факторами, котрі посилюють сукупність послідовних фізіологічних змін у рані. В умовах ЦД, комплекс біологічних реакцій організму на пошкодження порушується: колаген, який відповідає за ліквідацію тканинного дефекту, практично не синтезується завдяки зниженій активності макрофагів; знижена міграція клітин епітелію не дозволяє в повній мірі епітелізувати рану та створити бар'єр для мікроорганізмів, що ще більше пригнічує процес ранозагоювання [3, 8, 14, 19]. Завдяки цьому, рани при ЦД довготривало залишаються у I фазі ранового процесу, згідно з класифікацією М. І. Кузина (1977). Послідовний каскад біологічних реакцій (спазм судин > паретичне розширення мікросудин > набряк міжклітинного простору > зниження перфузії тканин > ацидоз > підвищення осмотичного тиску в тканинах > відсутність синтезу протеолітичних ферментів > інфікування > тромбоз судин > і так далі по замкнутому колу) вже на початку формування тканинного дефекту дозволяє прогнозувати тривалий перебіг ранового процесу та відсутність ефективності лікування у більшості випадках. Стандартні методи лікування СДС не завжди дозволяють досягти загоєння тканинного дефекту та попередити ампутацію кінцівки, що сприяє активному пошуку нових лікувальних підходів [1, 6, 12, 15].

В останні роки, великий інтерес викликають методи регенераторної медицини, а саме генні та клітинні технології, які направлені на часткову або повну компенсацію функцій пошкоджених, втрачених органів (тканин) [7, 11, 17].

Тромбоцитарно-збагачена плазма (PRP) – це визнана в усьому світі сучасна стратегія лікування різноманітних патологій. Незначна кількість отриманої плазми містить високі концентрації

факторів росту тромбоцитів, які забезпечують ideale середовище для регенерації тканин, що дозволяє застосовувати PRP в якості компоненту біологічної терапії.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Порівняти ефективність застосування PRP та загальноприйнятих методів місцевої терапії при довготривало незагоєних ранах у пацієнтів із синдромом діабетичної стопи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єкт дослідження – 33 пацієнти з тканинними дефектами на стопі та гомілці при СДС у віці від 23 до 58 років.

Критерії включення – хворі на ЦД з встановленим діагнозом СДС, невропатична форма діабетичної стопи (ДС), тривалість ранового дефекту більше ніж 1 місяць з площею не більше 10 см².

Критерії виключення – нейроішемічна та ішемічна форма ДС, декомпенсована кардіальна патологія з постійним, тривалим прийманням антикоагулянтів та дезагрегантів, тривалість ранового дефекту менше 1 місяця з площею більше 10 см², приймання гормонів та глюкокортикостероїдів, пацієнти, котрі не можуть виконувати вимоги та рекомендації при лікуванні.

Причина тканинного дефекту: післяопераційні рани внаслідок раніше виконаних малих та дренуючих операцій на стопі з приводу гнійно-некротичних форм ДС, трофічні виразки гомілки посттравматичного характеру. Строк давності ран складав $45,6 \pm 11,6$ діб. Площа рани складала $7,9 \pm 2,1$ см².

Усі пацієнти мали невропатичну форму ДС, що підтверджене результатами дуплексного сканування артерій нижніх кінцівок, яке проводилось при попередньому відборі пацієнтів.

З урахуванням поставленої мети всі пацієнти були розподілені на дві групи: 1-а група (18 осіб) – при місцевому лікуванні застосовували тільки PRP терапію; 2-а група (15) – застосовували препарати місцевої дії з урахуванням фази ранового процесу.

Усім хворим до початку лікування, зазначеного у дослідженні, проводили хірургічну обробку ран, корекцію глікемії, клінічних проявів невропатії та супутньої патології, призначалися

антибактеріальні препарати у відповідності до антибіотикограми.

Дослідження ефективності терапії оцінювали за характером змін мікрофлори ран (мікробіологічне дослідження проводилось за стандартною методикою), змін в клітинному складі рани (за методикою Камаєва М.Ф.), площі ранової поверхні (математичне обчислювання різниці між попередніми та наступним вимірюванням).

Цитологічний метод дає об'єктивну інформацію про перебіг ранового процесу, що дозволяє корегувати та оптимізувати лікування.

В отриманих мазках проводили аналіз відносного вмісту наступних клітин: сегментоядерні нейтрофіли (СЯН), палочкоядерні нейтрофіли (ПН), фагоцитуючі нейтрофіли (ФН), дегенеративні нейтрофіли (ДН), еозинофіли (Е), лімфоцити (Л), моноцити (М), гістіоцити (Гц), макрофаги (Мф), фіброцити (Фц), фібробласти (Фбл), ендотелій (Енд). Результати висловлювали у відсотках на 100 порохованих клітин.

Для статистичної обробки застосовували програму «Statistica 6.0». Результат виражали у вигляді середнього арифметичного \pm стандартна похибка середнього (m).

Плазму, збагачену тромбоцитами, отримували згідно інструкції виробника ТОВ «ММ МЕДИК».

Отриману плазму вводили внутрішньошкірно по усій периферії тканинного дефекту зі сторони рани, потім накладали стерильну серветку та фіксували. Пов'язку прибирали на 2-у добу після введення препарату, рана зрошувалась фізіологічним розчином та закривалась стерильною пов'язкою. Перев'язка проводилась раз на добу, обов'язковою умовою було розвантаження стопи (при локалізації рани на стопі).

Першу ін'єкцію PRP проводили у 1-й день, другу через 7-м діб, тобто на 8-й день.

Дослідження (цитологічне, мікробіологічне, планіметричне) проводили на 1-й, 8-й та 22-й день від початку лікування. У пацієнтів 1-ї групи забор матеріалу проводився до введення плазми.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

До лікування у пацієнтів обох груп клітинний склад ранової поверхні був однотиповим та характерним для Д-З типу: превалювали нейтрофіли (1 група 86,0%, 2 група 83,5%), виявляли достатньо високий вміст нейтрофілів у стані деструкції та цитолізу без ознак активного фагоцитозу (1 група 24,0%, 2 група 25,5%), число МФ було мінімальним (3,5% та 2,5% відповідно).

Таблиця 1

Характер змін в ранах, що довго незажуються в залежності від типу лікування

Методи дослідження	Групи дослідження N = 33					
	1 група n = 18			2 група n = 15		
	Строки дослідження (цитограма (відн. %), наявність інфікування (%), площа ранової поверхні (см ²))					
	1-й день	8-й день	22-й день	1-й день	8-й день	22-й день
1	2	3	4	5	6	7
ПН	6,5 \pm 0,5	2,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,5	7,5 \pm 0,2	5,0 \pm 0,5	3,5 \pm 0,1
СЯН	55,5 \pm 0,5	26,0 \pm 1,1	11,0 \pm 0,1	50,5 \pm 1,5	41,5 \pm 1,5	18,5 \pm 0,5
ФН	8,5 \pm 0,2	10,0 \pm 0,5	6,0 \pm 0,5	6,0 \pm 0,5	10,5 \pm 0,2	12,5 \pm 0,5
ДН	15,5 \pm 0,3	8,5 \pm 0,2	2,5 \pm 0,1	19,5 \pm 2,5	15,5 \pm 0,5	9,5 \pm 0,3
Л	10,0 \pm 0,3	22,5 \pm 0,3	15,0 \pm 0,3	13,5 \pm 0,5	15,5 \pm 0,1	19,5 \pm 0,1
МФ	3,5 \pm 0,5	9,5 \pm 0,5	15,5 \pm 0,5	2,5 \pm 0,1	7,5 \pm 0,2	8,5 \pm 0,5
М	0,5 \pm 0,5	2,5 \pm 0,2	3,0 \pm 0,2	0,5 \pm 0,5	2,5 \pm 0,1	2,5 \pm 0,5
Гц	–	5,5 \pm 0,5	6,5 \pm 0,5	–	1,5 \pm 0,5	4,5 \pm 0,1
Фбл	–	10,5 \pm 0,1	11,5 \pm 0,5	–	0,5 \pm 0,5	6,5 \pm 0,5
Фц	–	2,5 \pm 0,5	28,5 \pm 0,1	–	–	14,5 \pm 0,1
Епітелій	–	+	+	–	–	+
1	2	3	4	5	6	7
Тип цитогр.	Д-З	Р-З	Р	Д-З	З-Р	Р-З
Мікрофлора	100%	35,8%	12,5%	100%	78,5%	39,5%
Площа рани	8,2 \pm 1,3	6,5 \pm 1,1	4,5 \pm 1,2	7,6 \pm 2,4	7,1 \pm 1,8	6,8 \pm 1,4

Примітка: Д-З – дегенеративно-запальний тип цитограми; З-Р – запально-регенераторний тип цитограми; Р-З – регенераторно-запальний тип цитограми; Р – ренегенераторний тип цитограми

Такий тип цитограми характерний для хворих з тривало незагоєваними ранами з приєднанням інфекційного агента. Так, мікробіологічне дослідження показало наявність мікроорганізмів у 100% випадках в обох групах, де перевагував *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus epidermidis*.

Інтерпретація результатів отриманих на 8-й день від початку лікування показала відмінності у групах. Так, у пацієнтів першої групи клітинний склад відповідав Р-3 типу, де на фоні відносного зниження кількості нейтрофілів 47,0% та їх дегенеративних форм 18,5% у 2 рази збільшилась кількість лімфоцитів (з 10,0% до 22,5%), у 2,7 раз кількість макрофагів (3,5–9,5%), з'явилися гістіоцити (5,5%), фібробласти (10,5%), фіброцити (2,5%), елементи крайової епітелізації. Також у 2,7 рази зменшилась кількість пацієнтів з інфікованими ранами.

У пацієнтів другої групи, за цей же період, цитограма не мала позитивних змін: зберігався високий рівень нейтрофілів (83,5% до початку лікування та 72,5% на період дослідження), кількість деструктивних нейтрофілів зросла з 25,5% до 31,0% (тоді як в першій групі відмічено їх зниження на 5,5%), кількість лімфоцитів збільшилась лише на 2,0% (у першій групі спостерігається їх збільшення у 2 рази). Але були і ознаки очищення рани: на 5,0% збільшилась кількість МФ, на 2,0% М, що відповідало З-Р типу цитограми. За збереження запалення у тканинах вказувала наявність мікробіологічного забруднення у 78,5% випадках.

Таким чином, у однотипних умовах для пацієнтів обох груп стимуляція ранового процесу уже за 7-м діб відмічена тільки у першій групі: деструктивні форми нейтрофілів зустрічались у 1,5 рази менше ніж у другій групі; МФ на 2,0% більше; в 3,5 рази більше Гц, Фбл у 23 рази, що свідчить про прояви васкуляризації, епітелізації та зменшення площі ранової поверхні. За однаковий проміжок часу рани у першій групі зменшилися на 1,7 см², що у 3,4 рази швидше ніж у другій групі (на 0,5 см²). Чисельність інфікованих ран у 1 групі було у 2,2 рази менше ніж у другій.

Такі позитивні зміни у ранах пацієнтів першої групи пов'язані з впливом складної суміші факторів росту, хемокинів, цитокинів PRP, котрі діють на мікросудинну дисфункцію, сприяють васкуляризації. Про активний бактеріостатич-

ний ефект PRP на штами *Staphylococcus aureus* і *Staphylococcus epidermidis*, свідчать роботи (...).

Максимальний викид факторів росту відбувається у перший час, однак тромбоцити здатні зберігати свою функціональну активність на протязі 7-и діб. Тому другу ін'єкцію PRP вводили через 7-м діб від першого введення, тобто на 8-й день, а дослідження проводили через 14 діб – на 22-й день від початку лікування.

Результати дослідження на 22-й день показали, що повторне введення PRP через такий проміжок часу є оптимальним, що пов'язано вочевидь із зниженням виробки металопротеїназ, які викликають деградацію позаклітинного матриксу у пацієнтів з СДС. У першій групі на 22-й день дослідження рани за клітинним складом мали регенераторний тип цитограм.

Співвідношення клітинних форм зрушено у позитивний бік: підвищена кількість макрофагів, гістіоцитів, фібробластів та фіброцитів на фоні зниження кількості нейтрофілів, особливо їх дегенеративних форм. Таким чином, з'являється активна, повноцінна васкуляризація, епітелізація у рані. Площа ранової поверхні до цього часу зменшилась у 2 рази та складала $4,5 \pm 1,2$ см².

Застосування традиційних методів місцевого лікування ран у пацієнтів другої групи дозволило досягти до цього проміжку часу тих результатів, котрі були відмічені у першій групі ще на 8-й день дослідження, тобто мали Р-3 тип цитограм, зниження мікробного обсіменіння до 39,5%, скорочення ранового дефекту на 0,8 см².

Таким чином, застосування PRP у терапії довготривало незагоєваних ран при СДС є перспективним напрямком регенераторної терапії.

ВИСНОВКИ

1. PRP – спосіб отримання природної концентрації власних факторів росту з мінімальною інвазивністю та малими затратами.

2. Застосування PRP у пацієнтів з тканинними дефектами в умовах ЦД дозволяє активізувати репаративні процеси у тканинах, зменшити строки епітелізації ран в порівнянні з традиційними місцевими методами лікування.

3. Запропонований метод біологічної терапії у таких пацієнтів є простим та доступним як для пацієнта, так і для лікаря. Не потребує постійного застосування перев'язочного кабінету у зв'язку з рідкими відвідуваннями лікаря, економічно вигідний.

REFERENCES

1. Abaev YuK. Treatment of chronic wounds, ulcers and bedsores. Zhurnal medical News. 2006; 6: 34–40.
2. Chervyakov YuV, Staroverov IN, Nersesyan EG. Therapeutic angiogenesis in the treatment of patients with chronic obliterating

diseases of the arteries of the lower extremities. Immediate and long-term results. Zhurnal fngiology and vascular surgery. 2012; 18: 19.

3. Deev RV, Mzhavanadze ND. Influence of a gene therapy inducer neoangiogenesis pveg165 on macro

and microhemodynamics in patients with chronic ischemia of the lower extremities of atherosclerotic genesis. Zhurnal science of the young. 2014; 1: 68–73.

4. Fenchin KM. Wound healing. Kyiv: Health; 1979. 168 p.

5. Finger MP. Biology of stem cells and cell technologies. The medicine; 2009. 456 p.

6. Galstyan GR, Sergeeva SV, Ignatieva VI et al. Clinical economic justification for the cost of a quota for the treatment of patients with diabetic foot syndrome. Zhurnal diabetes. 2013; 3: 71–83.

7. Galstyan GR, Dedov II, Avksent'eva MV et al. Clinical economic analysis of the use of the drug epidermal growth factor (Eberprotp®) in patients with diabetic foot syndrome. Zhurnal endocrine surgery. 2013; 1: 4–15.

8. Gelfand BR. Surgical infections of the skin and soft tissues. National recommendations. About-in surgeons. M. Med. inform. agency (MIA); 2015. 109 p.

9. Glukhov AA. Structural and functional features of the healing of aseptic soft tissue wounds using platelet-enriched blood plasma. Zhurnal angiology and vascular surgery. 2018; 6: 14–9.

10. Hammer A, Steiner S. Gene therapy for therapeutic angiogenesis in peripheral arterial disease – a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. Vasa. 2013; 42 (5): 331–339.

11. Karlova VA. Wounds and wound infection. M: Medicine; 2003. 340 p.

12. Konenkov VI, Klimontov VV. Angiogenesis and vasculogenesis in diabetes diabetes: new concepts of pathogenesis and treatment of vascular complications. Zhurnal diabetes. 2012; 4: 17–27.

13. Kosinets, AN, Kosinets VA, Pods YuV. Infection in surger. Minsk: Belarus. encycle. Im. P. Brocki; 2012. 496 p.

14. Kuzin MI, Kostyuchenok BM. Wounds and wound infection: a guide for doctors. MEDGIZ; 1990. 592 p.

15. Malyutina NB. Rational application of early surgical treatment of deep burns in patients of older age groups. Zhurnal combustiology. 2002; 10: 13–6.

16. Popov P.A., Popov Yu.P., Magomedova L.A. et al. Treatment of complications after operations on the abdominal organs with using platelet-rich plasma. Zhurnal surgeon. 2014; 6: 4–11.

17. Tiaka E.K., Papanas N., Manolakis A.C. et al. Epidermal growth factor in the treatment of diabetic foot ulcers: an update. Perspectives in Vascular Surgery and Endovascular Therapy 2012; 24 (1): 37–44.

18. Tolstov DA, Bogdan VG. Platelet concentrates: classification, production technologies, biological effects. BSMU; 2012, pp. 141–4.

19. Titova MI. Modern methods of morphological and hemostasiological analysis of the reparative process in the wound using information software. Zhurnal clinical laboratory diagnostics. 2000; 7: 24–36.

Стаття надійшла до редакції 24.05.2022