

Влияние различных средств закрытия ран на неоангиогенез раневого ложа у пациентов с различными формами синдрома диабетической стопы

Е.Л. ЗАЙЦЕВА, А.Ю. ТОКМАКОВА, Л.П. ДОРОНИНА, И.А. ВОРОНКОВА, Г.Р. ГАЛСТЯН, М.В. ШЕСТАКОВА

ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Изучить влияние различных средств закрытия ран на формирование сосудистой сети раневого ложа у пациентов с различными формами синдрома диабетической стопы (СДС).

Материалы и методы. Оценены клинические (локальная оксигенация тканей) и иммуногистохимические (CD31) маркеры неоангиогенеза мягких тканей стоп у лиц с СДС на фоне применения терапии отрицательным давлением (ОД) и коллагенсодержащих повязок (КСП) по сравнению со стандартным лечением. Обследовали 63 пациентов с невропатической и нейроишемической (без критической ишемии) формами СДС после хирургической обработки ран. В послеоперационном периоде 21 пациент получали терапию ОД, у 21 применяли КСП и у 21 — стандартное лечение.

Результаты. На фоне терапии ОД зафиксирована статистически значимая интенсификация локальной микрогемодинамики по данным транскутанной оксиметрии ($p < 0,05$), в оставшихся двух группах статистически значимых различий по чрескожному напряжению кислорода на фоне лечения не отмечено. Согласно результатам иммуногистохимического исследования отмечено значительное увеличение количества новообразованных сосудов по данным окрашивания антител к CD31 ($p < 0,05$) у лиц, получавших терапию ОД и КСП ($p < 0,05$).

Заключение. Вакуум-терапия (ОД) наиболее эффективно влияет на неоангиогенез раневого ложа по сравнению со стандартным лечением. Это выражается в усилении локальной микрогемодинамики тканей, что подтверждено результатами иммуногистохимического исследования.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, хронические раны, терапия отрицательным давлением, неоангиогенез, микроциркуляция, иммуногистохимия.

Impact of various wound dressings on wound bed neoangiogenesis in patients with different forms of diabetic foot syndrome

E.L. ZAITSEVA, A.Yu. TOKMAKOVA, L.P. DORONINA, I.A. VORONKOVA, G.R. GALSTYAN, M.V. SHESTAKOVA

Endocrinology Research Center, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Aim. To investigate the impact of various wound dressings on wound bed neoangiogenesis in patients with different forms of diabetic foot syndrome (DFS).

Subjects and methods. The clinical (local tissue oxygenation) and immunohistochemical (CD31) markers of foot soft tissue neoangiogenesis were evaluated in patients with DFS receiving negative pressure (NP) therapy and collagen-containing dressings (CCDs) versus standard treatment. 63 patients with neuropathic and neuroischemic (without critical ischemia) forms of DFS were examined after wound debridement. In the postoperative period, 21 patients received NP treatment, CCDs were applied to 21 patients, and 21 patients had standard treatment.

Results. During NP therapy, there was statistically significantly intensified local microhemodynamics, as evidenced by transcutaneous oximetry ($p < 0.05$); the remaining two groups showed no statistically significant differences in transcutaneous oxygen tension during the treatment. Immunohistochemical examination revealed a significant increase in the number of newly formed vessels, as shown by anti-CD31 antibody staining ($p < 0.05$), in patients who had NP therapy and CCDs ($p < 0.05$).

Conclusion. Vacuum (NP) therapy versus standard therapy most effectively affects wound bed neoangiogenesis. This is reflected in the increased local tissue microhemodynamics, as confirmed by immunohistochemical examination.

Keywords: diabetic foot syndrome, chronic wounds, negative pressure therapy, neoangiogenesis, microcirculation, immunohistochemistry.

АТ — антитела
ИГХИ — иммуногистохимическое исследование
КСП — коллагенсодержащие повязки
ОД — отрицательное давление

СД — сахарный диабет
СДС — синдром диабетической стопы
ТОМ — транскутанная оксиметрия
ЧНК — чрескожное напряжение кислорода

Хронические раневые дефекты при сахарном диабете (СД) представляют большую медико-социальную проблему. В настоящее время стандарты лечения хронических ран при СД, разработанные Американской ассоциацией диабета (ADA), Обществом лечения ран (WHS), Между-

народной рабочей группой по лечению диабетической стопы (IWSDF), предлагают в качестве обязательных мер для обеспечения заживления хирургическую обработку, контроль инфекции, разгрузку пораженной конечности, своевременное вмешательство по восстановлению арте-

риального кровотока при наличии критической ишемии нижней конечности [1–3]. Однако стандартное лечение позволяет достичь полного заживления ран только в 21–35% случаев [4].

Одним из главных условий успешного заживления является хорошее кровоснабжение окологранулематозной области [5]. Транскутанная оксиметрия (ТОМ) длительное время применяется для определения прогноза сохранения конечности и ее положительные результаты могут служить предиктором заживления ран при СД [6, 7].

В качестве адьювантных методов местного лечения ран различной этиологии применяются терапия отрицательным давлением (ОД) и коллагенсодержащие повязки (КСП). Эффективность данных методик показана для лечения ран при синдроме диабетической стопы (СДС) [6, 8], однако механизмы их действия до конца не изучены.

Цель данной работы — оценить влияние различных методов местного лечения неангиогенеза раневого ложа у больных СД.

Материалы и методы

В исследование включили 63 пациентов с различными формами СДС (без критической ишемии) после хирургической обработки раневого дефекта. В течение 8 ± 3 дня у 21 из них применялась терапия отрицательным давлением от -90 до -120 мм рт. ст. (VivanoTec, «Hartmann», Германия; Renasys, «Renasys Go, Smith & Nephew», Великобритания), губчатую повязку меняли 1 раз в 3–5 дней (1-я группа). Пациенты, распределенные во 2-ю группу, получали местное лечение в виде КСП (Promogran, «Systagenix», Великобритания). Повязки меняли 1 раз в 2-е суток, исходя из рекомендаций производителя. У 21 больного из контрольной группы проводили терапию атравматичными перевязочными средствами (Inadinc, «Systagenix», Великобритания; Atrauman, «Hartmann», Германия). Повязки меняли ежедневно.

Помимо ежедневной оценки диаметра и глубины раневого дефекта, фиксировали чрескожное напряжение кислорода (ЧНК) и брали биопсийный материал раневого ложа до начала и после окончания местного лечения.

Во время стационарного лечения все пациенты получали необходимую сахароснижающую терапию, разгрузку нижних конечностей, антибактериальную терапию согласно принятым рекомендациям по лечению больных СД [9].

Пациенты обеих групп сопоставимы по возрасту, уровню контроля углеводного обмена, выраженности микрососудистых осложнений, состоянию кровотока по магистральным артериям нижних конечностей, площади и глубине раневых дефектов. Подробная клиническая характеристика больных, включенных в исследование, представлена в таблице.

ТОМ выполнена с помощью оксиметра TCM-4 («Radiometer», Дания). Датчики накладывали на расстоянии 0,5–1 см от краев раны.

Образцы тканей раневого ложа (объемом около 0,5 см³) для иммуногистохимического исследования (ИГХИ) брали до и после лечения. Материал фиксировали в 10% растворе формалина,

затем заливали в парафин по стандартной методике. Серийные срезы толщиной 3–5 мкм депарафинировали по стандартной схеме.

ИГХИ выполнили на иммунофлуоресцентном микроскопе Leica BOND-MAX. Использовали антитела (АТ) фирмы «Dako» в стандартных разрезах с положительным контролем. Применяли антитела к молекуле адгезии тромбоцитов и эндотелиоцитов-1 CD31. Плотность сосудов на единицу площади (0,75 мм², увеличение 20, диаметр поля зрения объектива 1 мм) оценивали путем подсчета количества сосудов, эндотелий которых экспрессировал CD31, в месте их наибольшей плотности.

Исследование проведено как сравнительное в параллельных группах. Протокол исследования одобрен на заседании этического комитета ФГБУ ЭНЦ (протокол № 18).

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием пакета прикладных программ Statistica («StatSoft Inc.» США, версия 6.0). Для анализа распределений применяли критерии Шапиро–Уилка и Лиллиефорса, дисперсии распределений признаков оценивали с помощью критерия F в процедуре дисперсионного анализа ANOVA. Учитывая небольшие объемы выборок и распределения, отличающиеся от нормального, применяли непараметрические методы анализа данных. Сравнение независимых групп по количественным признакам осуществляли непараметрическим методом с использованием критерия U Манна–Уитни. Сравнение зависимых групп по количественным признакам осуществлялось непараметрическим методом с использованием критерия Вилкоксона. Сравнение независимых групп по качественным признакам осуществляли непараметрическим методом путем анализа таблиц сопряженности с использованием двустороннего точного критерия Фишера для несвязанных групп. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Анализ связи (корреляции) двух количественных признаков осуществляли непараметрическим методом ранговой корреляции Спирмена.

Результаты

На фоне терапии ОД зафиксирован прирост ЧНК тканей, как и в группе контроля. Однако в 1-й группе $tc-pO_2$ после лечения оказалось существенно выше: 52 (48; 58) мм рт.ст. при исходном 46 (38; 52) мм рт.ст., в контрольной группе — 39 (32; 47) и 43 (38; 47) мм рт.ст. соответственно ($p=0,0007$).

По данным ТОМ во 2-й группе отмечена более выраженная, чем в 3-й группе, интенсификация локальной микроциркуляции: 48 (45; 53) мм рт.ст. по сравнению с исходной 47 (41; 51) мм рт.ст. ($p=0,02$).

По показателям ТОМ тканей окологранулематозной области на фоне лечения 2-я и 3-я группы различались статистически значимо ($p=0,02$).

На рис. 1 представлены результаты ТОМ на фоне местного лечения в обследованных группах.

Таким образом, можно сделать вывод, что терапия ОД влияет на оксигенацию пораженной зоны более эффективно, чем стандартное лечение, у лиц с СДС.

При подсчете сосудов (с помощью ИГХИ с АТ к CD31) на фоне местного лечения зафиксировано значительное увеличение количества новообразованных сосудов по данным окраски CD31: в 1-й группе до лечения число сосудов составляло 46 (33; 66), после лечения — 101 (75; 189; $p=0,01$) во 2-й группе — 43 (19; 62) и 84 (50; 109) соответственно ($p=0,006$), в контрольной группе — 58 (30;

Сведения об авторах:

Токмакова Алла Юрьевна — д.м.н., г.н.с. отд-ния диабетической стопы

Доронина Людмила Петровна — к.м.н., врач-хирург отд-ния диабетической стопы

Воронкова Ия Александровна — к.м.н., врач-лаб. гистологии и иммуногистохимии с группой биобанкинга

Галстян Гагик Радикович — д.м.н., зав. отд-нием диабетической стопы

Шестакова Марина Владимировна — акад. РАН, директор Института диабета ФГБУ ЭНЦ

Контактная информация:

Зайцева Екатерина Леонидовна — к.м.н., н.с. отд-ния диабетической стопы; 117036 ул. Дм. Ульянова, 11; e-mail: zai_kate@gmail.com

Характеристика групп пациентов, включенных в исследование

Показатель	Группа		
	1-я (NPWT; n=21)	2-я (коллаген; n=21)	3-я (контроль; n=21)
Возраст, годы	60 (52; 64)	55 (50; 66)	60 (57; 72)
Пол (м/ж)	14/7	14/7	14/7
Длительность течения СД, годы	16 (12; 24)	15 (13; 16)	12 (9; 16)
Тип СД (1-й/2-й)	5/16	5/16	1/20
HbA _{1c} , %	8,8 (7,4; 10,6)	8,3 (7,8; 9,5)	8,8 (7,6; 9,7)
Диабетическая невропатия:			
нет	1	2	0
есть	20	19	21
tcpO ₂ до лечения, мм рт.ст.	46 (38; 52)	47 (41; 51)	39 (32; 47)

Примечание. Данные представлены в виде медианы (25-й процентиль; 75-й процентиль). Различия показателей между 1-й и 3-й, а также 2-й и 3-й группами статистически незначимы.

95) и 97 (56; 157) соответственно ($p=0,03$). Несмотря на то что видна более выраженная тенденция прироста новообразованных сосудов во всех группах, статистически значимых различий между группами не отмечено.

На рис. 2 (см. на цв. вклейке) представлена иммуногистохимическая картина окрашивания эндотелия сосудов с помощью АТ к CD31 на фоне местной терапии.

Корреляций между значениями ТОМ и количеством новообразованных сосудов по данным ИГХИ с CD31 в обследуемых группах не получено (коэффициент корреляции Спирмена $r_s=-0,02$).

Обсуждение

Изучены особенности неоангиогенеза в мягких тканях нижних конечностях у 63 пациентов с невропатической и нейроишемической формами (без критической ишемии) СДС, получавших в периоперационном периоде терапию ОД, КСП или стандартное лечение. Критерием отказа от включения в исследование служило наличие критической ишемии нижних конечностей.

Больные были сопоставимы по возрасту, длительности СД, выраженности микрососудистых осложнений СД, размерам ран и стадии раневого процесса, а также оксигенации мягких тканей и количеству сосудов по данным ИГХИ с CD31.

Всем больным до начала местного лечения проведена хирургическая обработка, а также антибактериальная терапия, таким образом наличие раневой инфекции исключалось. По результатам проведенного лечения длительностью 8 ± 3 дня выявлено существенное различие по показателям ТОМ в исследуемых группах.

При исходном обследовании среднее tcpO₂ у всех больных составляло $43,8 \pm 9,4$ мм рт.ст., что свидетельствует о состоятельном артериальном кровотоке в пораженной конечности и отсутствии критической ишемии у обследованных больных.

На фоне местного лечения зафиксирован статистически значимый прирост парциального давления кислорода в 1-й группе: медиана tcpO₂ после лечения 52 (48; 58) мм рт.ст. при исходном 46 (38; 52) мм рт.ст.; $p<0,01$); во 2-й группе — 48 (45; 053) и 47 (41; 51) мм рт.ст. соответственно ($p=0,18$); в 3-й группе — 39 (32; 47) и 43 (38; 47) мм рт.ст. соответственно ($p=0,017$). При сравнении результатов лечения 1-й и 2-й групп с контрольной выявлены статисти-

чески значимые различия по полученным результатам ($p<0,001$ и $p=0,02$ соответственно).

Таким образом, можно констатировать, что терапия ОД дает значительный положительный эффект в отношении локальной микроциркуляции, что согласуется с данными других авторов, в чьих работах показано усиление местного кровотока на фоне терапии ОД [10, 11]. Это активизирует репаративные процессы, увеличивает скорость заживления, а также способствует более эффективному действию медикаментозной терапии, так как с интенсификацией местного кровоснабжения облегчается поступление антибактериальных препаратов в рану. Подобный эффект описан рядом авторов, в том числе в отечественной литературе [12, 13].

В работе [14] описано усиление локального кровотока после терапии коллагеном (повязкой Promogran) у лиц с венозными язвами, что не нашло подтверждения в нашем исследовании.

Обращает внимание незначительное уменьшение локальной микроциркуляции на фоне стандартного лечения, что может быть обусловлено погрешностью метода и сохраняющимся посттравматическим отеком окружающих тканей.

На фоне терапии в 1-й группе отмечен наибольший прирост числа сосудов, окрашенных с помощью АТ к CD31: медиана числа сосудов на единицу площади составляла 101 (75; 189; $p<0,001$). Полученные данные согласуются с результатами ТОМ, при которой зафиксирован значительный прирост локальной микрогемодинамики после лечения. Данные результаты свидетельствуют об активности репаративных процессов в мягких тканях и могут служить маркером успешного заживления. Однако корреляции между показателями ТОМ и числом новообразованных сосудов не выявлено.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о положительном действии терапии ОД и КСП на неоангиогенез дна раны, что способствует более быстрому созреванию грануляционной ткани и как следствие заживлению ран.

Заключение

Терапия ОД статистически значимо усиливает локальную микроциркуляцию по данным ТОМ ($p<0,05$). Применение вакуум-терапии (ОД) и КСП статистически значимо увеличивает число новообразованных сосудов

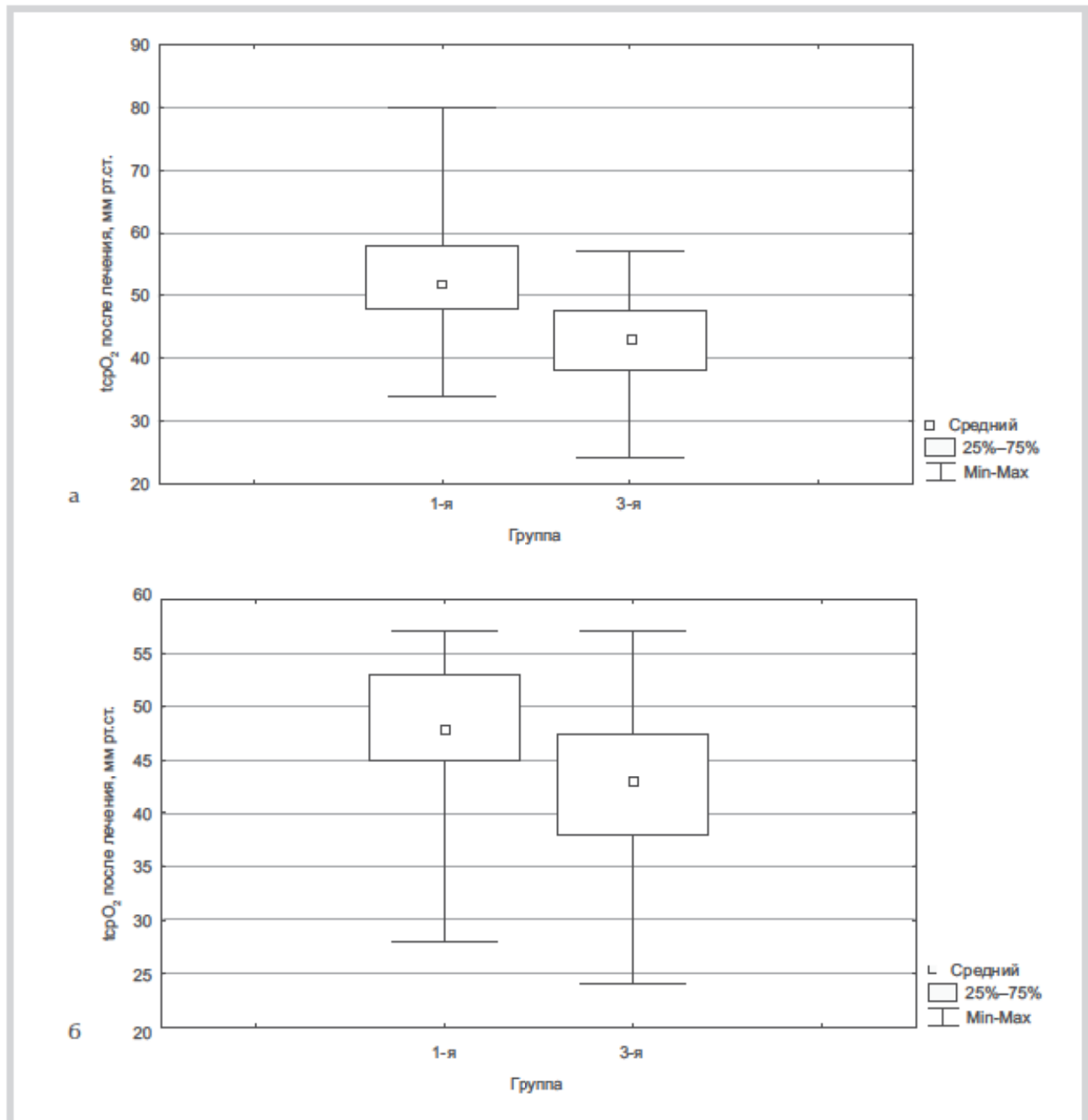


Рис. 1. Показатели ЧНК тканей стоп после лечения в 1-й и 3-й (а) и 2-й и 3-й (б) группах.

($p < 0,05$), что способствует ускорению процессов заживления раневых дефектов у лиц с невропатической и нейроишемической формами СДС. Выявлено статистически значимое увеличение числа новообразованных сосудов по данным ИГХИ при окрашивании маркера CD31 ($p < 0,05$) при использовании терапии ОД.

Исследование проведено при спонсорской поддержке ФГБУ ЭНЦ в рамках утвержденной темы научно-исследовательской работы.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2015 Clinical diabetes: a publication of the American Diabetes Association 2015;33:1-93. <http://www.plasticsurgery.org/>

Documents/medical-professionals/health-policy/evidence-practice/Evidence-based-Clinical-Practice-Guideline-Chronic-Wounds-of-the-Lower-Extremity.pdf

2. Barbul A, et al. Wound Care Guidelines of the Wound Healing Society. *Wound Repair Regene* 2006;14:645-711. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2006.00172.x>
3. IWGDF Guidance on the diabetic foot 2015. International Working Group on the Diabetic Foot, Netherlands; 2015.
4. Gibbons Gary W. *Advances in Wound Care*. 2015;4(9):534-544. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0647>
5. Baltzis D, Eleftheriadou I, Veves A. *Adv Ther*. 2014;31:817. <https://doi.org/10.1007/s12325-014-0140-x>
6. Frykberg Robert G, Banks Jaminelli. *Advances in Wound Care*. 2015;4(9):560-582. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>
7. Kalani M, Brismar K, Fagrell B, Ostergren J, Jorneskog G. Transcutaneous oxygen tension and toe blood pressure as predictors for outcome of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care*. 1999;22:147-151. <https://doi.org/10.2337/diacare.22.1.147>
8. Cullen B, Watt P, Lundqvist C, et al. The role of oxidized regenerated cellulose/collagen in chronic wound repair and its potential mechanism of action. *Int J Biochem Cell Biol*. 2002;34(12):1544-1556. [https://doi.org/10.1016/s1357-2725\(02\)00054-7](https://doi.org/10.1016/s1357-2725(02)00054-7)
9. *Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом*. 8-й вып. Под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. М.: ФГБУ Эндокринологический научный центр. 2017. [(In Russ.)].
10. Lavery L, Murdoch D, Kim P, Fontaine J, Thakral G, Davis K. Negative Pressure Wound Therapy With Low Pressure and Gauze Dressings to Treat Diabetic Foot Wounds. *Journal of Diabetes Science and Technology*. 2014;8(2):346-349. <https://doi.org/10.1177/1932296813519012>
11. Timmers M, Le Cessie S, Vanwell P, Jukema G. The effects of varying degrees of pressure delivered by negative-pressure wound therapy on skin perfusion. *Ann Plast Surg*. 2005;55:665-671.
12. Горюнов С.В., Абрамов И.С., Чапарьян Б.А., Егоркин М.А., Жидких С.Ю. *Руководство по лечению ран методом управляемого отрицательного давления*. М.: Издательский дом «Русский врач»; 2013. [Goryunov SV, Abramov IS, Chaparyan BA, Egorkin MA, Zhidkih SYu. *Guidelines of negative pressure wound therapy*. М.; 2013. (In Russ.)].
13. Зайцева Е.Л., Токмакова А.Ю., Шестакова М.В., Галстян Г.Р., Доронина Л.П. Изучение влияния различных методов местного лечения на заживление ран у пациентов с нейропатической и нейроишемической формой синдрома диабетической стопы. *Вестник РАМН*. 2016;71(6):00-00. [Zaitseva EL, Tokmakova AY, Shestakova MV, Galstyan GR, Doronina LP. The Study of Influence of Different Methods of Local Treatment on Wound Healing in Patients with Diabetic Foot Ulcers. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016; 71(6):00-00. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.15690/vramn735>
14. Wollina U, Schmidt W, Krönert C, et al. Some effects of a topical collagen-based matrix on the microcirculation and wound healing in patients with chronic venous leg ulcers: preliminary observations. *Int J Low Extrem Wounds*. 2005;4(4):214-224. <https://doi.org/10.1177/1534734605283001>

Поступила 27.04.17