

Зайцева Екатерина Леонидовна

**КЛИНИЧЕСКИЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И
ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАЦИИ
МЯГКИХ ТКАНЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У БОЛЬНЫХ С
СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ НА ФОНЕ РАЗЛИЧНЫХ
МЕТОДОВ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ**

14.01.02 – эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва - 2015

**Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской
Федерации
(Директор – академик РАН И.И.Дедов)**

Научный руководитель

Токмакова А.Ю.

доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Гурьева Ирина Владимировна

доктор медицинских наук, заведующая сектором медико-социальной экспертизы и реабилитации при эндокринных заболеваниях ФГБУ "Федеральное бюро медико-социальной экспертизы" Минтруда России

Анциферов Михаил Борисович

доктор медицинских наук, профессор, главный врач ГБУ здравоохранения города Москвы «Эндокринологического диспансер» Департамента здравоохранения города Москвы»

Ведущая организация Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

Защита состоится декабря 2015 года в 14.00 на заседании диссертационного совета Д.208.126.01 в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу:
117036, г.Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д.11

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автореферат разослан « »

2015 года

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Суркова Елена Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Сахарный диабет (СД) является одной из важнейших медико-социальных проблем. Согласно данным, представленным Международной федерацией диабета, количество лиц, страдающих этим заболеванием, в мире насчитывает 382 миллиона человек (Атлас диабета IDF. Шестое издание, 2014).

У 30-80% больных СД регистрируются хронические раневые дефекты мягких тканей нижних конечностей различного генеза. Более чем в половине случаев течение раневого процесса у лиц с данной патологией крайне длительное и может сопровождаться присоединением раневой инфекции и болевого синдрома. Раны могут быть резистентными к лечению, что приводит к снижению качества жизни пациентов и представляет непосредственную опасность последующей ампутации. Даже в том случае, когда радикального хирургического вмешательства удастся избежать, долгосрочное и крайне дорогостоящее лечение трофических нарушений мягких тканей нижних конечностей ведет к огромным затратам как материальных средств, так и времени медицинского персонала.

Согласно отечественным данным, затраты на лечение больных с синдромом диабетической стопы составят 36.2 млн. рублей, из них половина тратится на оказание медицинской помощи в условиях ВМП, остальное – на медицинскую помощь и протезирование при первичных и повторных ампутациях (Галстян Г.Р. с соавт., 2013).

Обычно в клинической практике оцениваются лишь внешние характеристики формирующейся грануляционной ткани, что является недостаточным и может привести к ошибкам в лечении. Морфологические характеристики зрелости грануляций оценивались на лабораторных моделях или у лиц без нарушений углеводного обмена. На сегодняшний день малоизученными остаются такие показатели состоятельности грануляционной ткани, как скорость

неоваскулогенеза, протеолитическая активность, количество макрофагов, как основного источника факторов роста, необходимых для заживления.

В норме заживление раны включает целый ряд последовательных биологических и молекулярных процессов, которые начинаются с миграции и пролиферации клеток в зоне повреждения и перестройки экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), а заканчиваются ремоделированием вновь образованных тканей и сосудов. Эффективная репарация невозможна без своевременного и точного клеточного ответа, заключающегося в активации кератиноцитов, фибробластов, эндотелиальных клеток, макрофагов и тромбоцитов, которые синтезируют различные факторы роста и цитокины, регулирующие раневой процесс и приводящие к достижению эпителизации (Galkowska H., Wojewodzka U. et al., 2006).

Считается, что при длительно текущем и плохо контролируемом СД, вследствие развития поздних микро- и макрососудистых осложнений, снижается экспрессия местных ростовых факторов (Дедов И.И., Шестакова М.В., 2011).

В настоящее время проводятся многочисленные исследования роли цитокинов, ростовых факторов в заживлении при СД, однако единой оценки роли этих молекул в репарации до сих пор нет.

Гипергликемия приводит к нарушению иммунных реакций, что значительно повышает риск вторичного инфицирования. Гликирование белков изменяет их структуру и функцию, что играет важную роль в развитии микрососудистых осложнений сахарного диабета (Дедов И.И., Шестакова М.В., 2011).

По данным экспериментальных работ, высокая концентрация глюкозы тормозит пролиферацию человеческих фибробластов в культуре клеток, бычьих эндотелиальных клеток, первичных кератиноцитов кожи мышей (Baltzis D., Eleftheriadou I., et al., 2014). Фибробласты теряют чувствительность к стимуляции факторами роста, а эндотелиальные клетки и макрофаги

человека начинают вырабатывать большее количество MMP (Baltzis D., Eleftheriadou I., et al., 2014).

Хронические раневые дефекты при СД находятся в фазе воспаления более продолжительный период, чем при нормальном углеводном обмене, отмечена сниженная активность воспалительных клеток и замедление перестройки ЭЦМ. Вышеперечисленные нарушения способствуют трансформации раны из острой в хроническую (Boulton A., et al., 2006).

Наиболее информативными показателями интенсивности репарации в мягких тканях признается маркер эндотелия сосудов (антитело CD31), активность матриксных металлопротеаз (MMP-9) и тканевого ингибитора металлопротеаз (TIMP-1), маркер макрофагов (CD68), матриксно-клеточный белок остеопонтин.

В связи с этим представляется целесообразным изучить особенности изменений данных показателей, отражающих тканевую репарацию на фоне различных методов местного лечения у лиц с СД.

Цель исследования

Оценить влияние различных методов местного воздействия на репарацию тканей у больных с синдромом диабетической стопы для оптимизации тактики и повышения эффективности лечения язвенных дефектов стоп у данной категории пациентов.

Задачи исследования

1. Оценить интенсивность репаративных процессов у лиц с нейропатической и нейроишемической (без критической ишемии) формами синдрома диабетической стопы после первичной хирургической обработки раневого дефекта.
2. Изучить клинические особенности процесса заживления раневых дефектов стоп на фоне терапии отрицательным давлением, коллагенсодержащими и атравматическими повязками.

3. Изучить изменения локальной микрогемодинамики по данным транскутанной оксиметрии на фоне различных методов местного воздействия
4. Изучить гистологические и иммуногистохимические особенности заживления на фоне использования различных средств закрытия ран.
5. Оценить влияние терапии отрицательным давлением, коллагенсодержащих и атравматических повязок на скорость неоваскулогенеза.
6. Изучить уровень протеолитической активности грануляционной ткани до и после применения различных методов местного лечения.

Научная новизна

Впервые будет выполнена комплексная оценка клинических, гистологических и иммуногистохимических особенностей репаративных процессов в мягких тканях нижних конечностей у лиц с синдромом диабетической стопы на фоне различных видов местного лечения.

Впервые в Российской Федерации будет проведена сравнительная оценка эффективности современных методов местного воздействия у пациентов с различными формами синдрома диабетической стопы.

Впервые в Российской Федерации будет изучено влияние средств местного лечения на локальную микрогемодинамику.

Практическая значимость

На основании полученных данных будет оценено влияние различных методов местного лечения ран на сроки подготовки к следующему этапу лечения, интенсивность болевого синдрома, изменения локальной микрогемодинамики.

Будет предложен алгоритм периоперационного ведения больных сахарным диабетом с хроническими раневыми дефектами стоп.

Положения, выносимые на защиту

1. Репаративные процессы в мягких тканях нижних конечностей нарушены у лиц с сахарным диабетом.
2. Различные виды местного лечения ран по-разному влияют на интенсивность процессов заживления у больных сахарным диабетом.
3. Вид местного лечения может влиять на локальную микрогемодинамику в окружающих рану тканях.

Апробация работы и публикации

Официальная апробация работы состоялась 22 июня 2015 года на расширенном заседании Межотделенческой научной конференции ФГБУ ЭНЦ Минздрава России (протокол № 4).

Результаты исследования доложены на VI Всероссийском конгрессе эндокринологов (Москва, 2012), 23 конференции европейской ассоциации по лечению ран (Дания, Копенгаген, 2013), 24 конференции европейской ассоциации по лечению ран (Испания, Мадрид, 2014), II Всероссийском конгрессе «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москве, 2014) на 2-м Европейском Конгрессе молодых эндокринологов (Сербия, Белград, 2014), 7м конгрессе общества молодых эндокринологов Германии (Германия, Гамбург, 2014).

Научная ценность работы отмечена присуждением 1го места за стендовый доклад на международном симпозиуме по диабетической стопе (Голландия, Гаага, 2015).

По теме диссертации опубликованы: 13 печатных работ, в том числе пять в центральных медицинских журналах, рецензируемых ВАК Министерства образования РФ; тезисы, напечатанные за рубежом и в сборниках российских конференций, а также доклады.

Практические рекомендации, сформулированные в ходе исследования, внедрены в клиническую практику отделения диабетической стопы ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России.

Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 147 страницах, состоит из введения, пяти основных глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Диссертация проиллюстрирована таблицами (8), рисунками (26), описанием трех клинических случаев и одной схемой. Список литературы содержит 19 отечественный и 115 зарубежных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено в дизайне открытого проспективного рандомизированного сравнительного исследования с параллельными группами, в которое были включены пациенты с сахарным диабетом и синдромом диабетической стопы, находившиеся на стационарном лечении в отделении диабетической стопы ФГБУ Эндокринологический научный центр (зав.отделением д.м.н., проф. Галстян Г.Р.) в период с сентября 2011 года по декабрь 2014 года. Пациенты были распределены по группам местного лечения методом случайной выборки.

Объект исследования

Было обследовано 63 пациента с сахарным диабетом 1 и 2 типов с нейропатической и нейро-ишемической формами синдрома диабетической стопы (без критической ишемии нижней конечности) в возрасте от 32 до 78 лет. Всем пациентам была проведена хирургическая обработка раневого дефекта нижней конечности (традиционная или гидрохирургической системой VersaJet, Smith&Nephew, Великобритания) с иссечением некротизированных тканей и санированием очага инфекции, после чего был произведен забор биоптата раневого дефекта для проведения гистологического и иммуногистохимического исследования.

В качестве биопсийного материала брался участок ткани из центра раны, объемом около 0.5 см³.

После проведения хирургической обработки раны пациенты были распределены на группы методом случайной выборки.

Первую группу составили пациенты, получавшие в качестве местного лечения терапию отрицательным давлением величиной от -90 до -120 мм.рт.ст. (VivanoTec, Hartmann. Германия; Renasys, Renasys Go, Smith &Nephew. Великобритания), смена губчатой повязки проводилась 1 раз в 3-4 дня в зависимости от локального статуса и выраженности экссудации.

Во вторую группу были включены пациенты, находившиеся на терапии коллаген-содержащими повязками Promogran (Systagenix, Великобритания), перевязка проводилась 1 раз в 2 дня, согласно рекомендациям по применению данного перевязочного средства.

В третью группу – контрольную – входили больные, получавшие стандартное лечение атраматическими повязками (Adaptic, Systagenix, Великобритания; Atrauman, Hartmann, Германия). Учитывая низкую впитывающую способность вышеперечисленных средств закрытия, в качестве вторичной повязки применялись такие повязки как Mesorb (Molnlycke Health Care, Швеция), Zetuvit (Hartmann. Германия). Смена повязки проводилась ежедневно.

Группы 1 и 2 между собой не сравнивались в связи с различными механизмами действия исследуемых методик (физический метод воздействия при вакуум-терапии и конкурентное взаимодействие бычьего коллагена, входящего в состав коллаген-содержащих повязок, с матриксными металлопротеазами раневой среды). Кроме того, согласно отечественным и международным рекомендациям по лечению СДС, применение отрицательного давления и коллагена относится к адъювантным методам лечения, в отличие от стандартного местного лечения атравматическими повязками (Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом 6-й выпуск под редакцией И.И. Дедова и М.В. Шестаковой, - 2013. IWGDF Guidance on the diabetic foot 2015). В связи с этим, представляется интересным изучить эффективность вышеописанных методик местного лечения по сравнению со стандартной терапией.

Обследование включало в себя осмотр, анализ клинико-анамнестических данных, результатов лабораторно-инструментальных, гистологических и иммуногистохимических исследований.

Согласно стандартам медицинской помощи больным сахарным диабетом [1], в ходе пребывания в стационаре всем больным проводилась разгрузка нижних конечностей, по показаниям проводилась антибактериальная терапия. Антибактериальные препараты назначались с целью профилактики вторичного инфицирования ран, которое возможно при смене повязок.

В ходе госпитализации у всех больных показатели гликемии были в пределах индивидуальных целевых значений.

Всеми пациентами было подписано информированное согласие на проведение того или иного метода лечения.

Протокол исследования одобрен на заседании этического комитета ФГБУ ЭНЦ от 28 ноября 2012 года (протокол №18).

Общеклинический анализ крови проводился на гематологическом анализаторе ХЕ 2100 (Sysmex, Япония) с автоматической загрузкой образцов.

Биохимический анализ крови производился на автоматическом биохимическом анализаторе Architect plus C 4000 (Abbott Diagnostics, США) фотометрическим методом по стандартным методикам с использованием реактивов производителя. Уровень гликированного гемоглобина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления на аппарате D-10 (BioRad Laboratories, США) по стандартной методике производителя.

Диагностика диабетической нефропатии проводилась согласно Алгоритмам специализированной медицинской помощи больным СД (Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом 6-й выпуск под редакцией И.И. Дедова и М.В. Шестаковой, - 2013). Определение микроальбуминурии (МАУ) в утренней порции мочи, протеинурии в суточной моче проведено на автоматическом биохимическом анализаторе Architect 4000 (Abbott, США) иммунным турбодиаметрическим методом по стандартным методикам с использованием реагентов Abbott Diagnostics, США.

В биохимическом анализе крови оценивался липидный профиль (холестерин общий, липопротеиды низкой и высокой плотности, триглицериды), содержание креатинина, мочевины, электролитов, общего белка крови.

Подсчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ) проводился по формуле MDRD (Modification of Dietin Renal Disease Study Group):

$$\text{СКФ (мл/мин/1.73 м}^2\text{)} = 186 \times (\text{уровень креатинина плазмы})^{-1.154} \times (\text{возраст [годы]})^{-0.203} \times 0.742 \text{ (для женщин)}.$$

Все лабораторные исследования образцов крови проводились по стандартным методикам на базе клинко-диагностической лаборатории ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ России (зав.отделением – Ильин А.В.).

Инструментальные методы исследования

Тактильная чувствительность оценивали с помощью монофиламента массой 10 г (North Coast Medical Inc., США) по стандартной методике. Вибрационную чувствительность определяли с помощью градуированного камертона (128 Гц) (Kircher&Wilhelm, Германия) на бугре большеберцовой кости, медиальной лодыжке и на медиальной поверхности головки 1-й плюсневой кости. Состояние температурной чувствительности определяли с помощью прибора «Тип-Терм» («Neue Medizintechnik GmbH», Германия).

Площадь раны определялась планиметрическим методом путем очерчивания контуров раны через прозрачную масштабную пленку (Opsite Flexgrid, Smith and Nephew, Великобритания) с последующим подсчетом количества квадратных сантиметров внутри контура. Глубина раневого дефекта оценивалась с помощью стерильной линейки.

Кровоток по тыльным артериям стопы, передним и задним большеберцовым артериям, а также состояние венозного оттока оценивалось по результатам дуплексного сканирования на аппарате Voluson 730 («General Electric», США) на базе отделения диабетической стопы ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ (к.м.н. Бондаренко О.Н., к.м.н. Егорова Д.Н.).

Определение транскутанной оксигенации кожи околораневой зоны (tcpO_2) проводили методом транскутанной оксиметрии. Для измерения tcpO_2 использовали оксиметр «ТСМ-30» (Radiometer, Дания). Датчик устанавливали на участок кожи на расстоянии 0.5-1.0 см от края раневого дефекта. Пациент в ходе исследования находился в положении лежа на спине в спокойном состоянии. Температура в помещении, где проводилось определение tcpO_2 , составляла 21–23°C. До начала обследования электроды калибровались атмосферным воздухом. После обработки кожи спиртовым раствором на нее устанавливались фиксирующие кольца, полость которых заполнялась раствором электролита. Затем в фиксирующие кольца помещались электроды. В течение нескольких минут датчик нагревал участок кожи в месте наложения

до 43 °С. Регистрация показателей транскутанной оксиметрии проводилась при их стабилизации через 10-15 минут после начала исследования.

Оценка выраженности болевого синдрома проводилась с помощью 5-балльной вербальной шкалы оценки боли (Frank A. J. M., Moll J. M. H., Hort J. F., 1982). Пациента опрашивали до и после лечения, испытывает ли он какую-либо боль, после чего было предложено оценить свои болевые ощущения по 5-балльной шкале, где 0 - нет боли, 1 - слабая боль, 2 - умеренная боль, 3 - сильная боль; 4 - очень сильная боль.

Офтальмологическое обследование больных СД состояло из сбора анамнеза; осмотра век, определения подвижности глазного яблока; визометрии по таблицам Сивцева-Головина, обследования полей зрения на электросферопериметре (Zeiss, Германия), пальпаторного определения офтальмотонуса; тонометрии с помощью бесконтактного тонометра ТГДц-01 (Пра), офтальмобиомикроскопии переднего отрезка глаза с помощью стационарной щелевой лампы, прямой и обратной офтальмоскопии при помощи прямого и бинокулярного налобного офтальмоскопов фирмы Welch Allyn, США. Результаты фиксировали путем фотографирования глазного дна на семипольной фундус-камере FF-5 (Opton, Германия), оснащенной фотоаппаратом Nicon, Япония. Исследования проводились на базе отделения диабетической ретинопатии и офтальмохирургии ФГБУ ЭНЦ МЗ России (Зав. отделением д.м.н. Липатов Д. В.).

Морфологическое исследование

Морфологические исследования проведены на базе лаборатории гистологии и иммуногистохимии с группой криобанкинга ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ (зав.отделением д.м.н., проф. Абросимов А.Ю.)

Морфологический анализ материала включал гистологический и иммуногистохимический методы исследования.

Биопсийный материал фиксировали в 10% растворе формалина, затем заливали в парафин по стандартной методике. Серийные срезы толщиной 3

мкм депарафинировали по стандартной схеме и окрашивали гематоксилином и эозином.

Оценка выраженности отека и экстрацеллюлярного матрикса проводились полуколичественным методом с помощью балльной оценки, где 1 «+» – слабо выражено, 2 «+» – умеренно выражено, 3 «+» – сильно выражено, 4 «+» – очень сильной выражено (Jongen-Lavrencic M. et al. -1996).

Зрелость грануляционной ткани оценивалась посредством определения площади некроза, количества сосудов, выраженности воспалительного инфильтрата и клеточного состава (полиморфноядерные лейкоциты, лимфоциты, макрофаги, фибробласты), и разделялась на молодую, созревающую, зрелую (по Струкову А.И, Серову В.В, 2010), где 1 – молодая грануляционная ткань: богатая клетками и тонкостенными сосудами соединительная ткань, между сосудами много недифференцированных лимфоцитоподобных клеток соединительной ткани, лейкоцитов, плазматических клеток и лаброцитов, 2 – созревающая грануляционная ткань: продолжается дифференцировка клеточных элементов, волокнистых структур, а также сосудов. Число гематогенных элементов уменьшается, а фибробластов - увеличивается. В связи с синтезом фибробластами коллагена в межклеточных пространствах образуются аргирофильные, а затем и коллагеновые волокна. По мере созревания фибробластов количество коллагеновых волокон увеличивается, они группируются в пучки; 3 – зрелая грануляционная ткань: волокнистая соединительная ткань.

Фазы воспаления были определены на основании классификации Кузина М.И. (1990 года), где фаза 1 – воспаления: в ране преобладают нейтрофильные гранулоциты, моноциты и макрофаги, фаза 2 - регенерации и созревания грануляционной ткани: последняя формируется в виде отдельных очагов на дне раны и характеризуется интенсивным новообразованием капилляров. Определяется большое количество фибробластов, формирование коллагеновых и эластиновых волокон, фаза 3 - рубцевания и эпителизации:

грануляционная ткань превращается в зрелую фиброзную ткань с грубыми коллагеновыми волокнами и фиброцитами.

Гистологическое исследование биопсийного материала проведено двумя независимыми морфологами на базе лаборатории гистологии и иммуногистохимии с группой криобанкинга ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ и кафедры патологической анатомии ПМГМУ им. И.М.Сеченова (зав.кафедрой - академик РАМН Пауков В.С.)

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование выполнили на иммуноштейнере Leica BOND-MAX (Германия). Характеристика использованных антител приведена в таблице 1. Использовались антитела к тканевому ингибитору металлопротеиназы 1 (TIMP-1), к матриксной металлопротеазе – 9 (MMP-9), антителу CD68 (белок семейства лизосомальных гликопротеинов, экспрессирующийся макрофагами, моноцитами, нейтрофилами, базофилами и NK- клетками), молекуле адгезии тромбоцитов и эндотелиоцитов -1 CD31 и белку остеопонтину.

Таблица 1. Характеристика антител

<i>Антитело</i>	<i>Характеристика антител</i>	<i>Фирма производитель</i>	<i>разведение</i>	<i>Положительный контроль</i>
TIMP-1	Мышиное/моноклональное (клон VT7)	Dako, США	1:50	Мозговой слой надпочечника
MMP-9	Кроличье/поликлональное (клон MMP-9)	Dako, США	1:100	Толстая кишка
Остеопонтин	Кроличье/моноклональное (клон EP106)	Epitomics, США	1:100-1:200	
CD31	Мышиное/моноклональное (клон JC70A)	Dako, США	1:30	аппендикс
CD68	Мышиное/моноклональное (клон PG-M1)	Dako, США	1:100	миндалины

Оценка экспрессии маркеров.

Оценка экспрессии таких цитоплазматических маркеров, как TIMP-1, MMP-9, остеопонтина проводилась полуколичественным методом: 1«+» окрашивание единичных клеток (менее 30% клеток), 2«+» - 30-60% клеток, 3«+» - 60-90%, 4 «+» - более 90% клеток.

Степень экспрессии CD68 (маркер макрофагов миелоидных и гистиоцитарных клеток) была рассчитана полуколичественным методом исходя из числа иммунопозитивных клеток и варьировала в диапазонах: 5-10%, 10-15%, 15-20%, 20-30%, 30-40% специфически окрашенных клеток.

Плотность сосудов на единицу площади ($0,75\text{мм}^2$ (увеличение 20х, диаметр поля зрения объектива 1 мм)) оценивали путем подсчета количества сосудов, эндотелий которых экспрессировал CD31, в месте их наибольшей плотности.

Морфологам не сообщали метод проводимого местного лечения у обследуемых больных, таким образом, гистологическое и иммуногистохимическое исследование были заслепленными.

Микрофотографии выполнены с помощью камеры Leica DSC 450 S («Leica», Германия).

Статистические методы анализа данных

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft Inc. США, версия 6.0). Для анализа вида распределений применялись критерии Шапиро-Уилка и Лиллиефорса, дисперсии распределений признаков оценивались с помощью F-критерия в процедуре дисперсионного анализа ANOVA. Учитывая небольшие объемы выборок и распределения отличающиеся от нормального, были использованы непараметрические методы анализа данных. Сравнение независимых групп по количественным признакам осуществлялось непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни. Сравнение зависимых групп по количественным

признакам осуществлялось непараметрическим методом с использованием критерия Вилкоксона. Сравнение независимых групп по качественным признакам осуществлялось непараметрическим методом путем анализа таблиц сопряженности с использованием двухстороннего точного критерия Фишера для несвязанных групп. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Анализ связи (корреляции) двух количественных признаков осуществлялся непараметрическим методом ранговой корреляции по Спирмену. Результаты исследований, обработанные статистически и представленные в виде таблиц или диаграмм, дают возможность судить о динамике медианы параметра, достоверности и интерквартильном отрезке, а так же связи с изменениями других параметров в соответствии с современными требованиями.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 2 представлена подробная общая характеристика больных до начала местного лечения, распределенных в группу вакуум-терапии (группа 1), коллаген-содержащих повязок (группа 2) и контрольную группу (группа 3).

Таблица 2. Характеристика обследованных больных до начала местного лечения ран.

Показатель	Группа 1 NPWT (n=21)	Группа 2 коллаген (n=21)	Группа 3 контроль (n=21)	p-value*	p-value**
Возраст, Ме [Q25;Q75], лет	60[52;64]	55[50;66]	60[57;72]	0,26	0,16
Пол (М/Ж)	14/7	14/7	14/7	1,0	1,0
Длительность течения СД, Ме [Q25;Q75], лет	16[12;24]	15[13;16]	12[9;16]	0,039	0,19
СД1/СД2	5/16	5/16	1/20	0,73	0,18

HbA1c, Me [Q25;Q75],%	8,8[7,4;10,6]	8,3[7,8;9,5]	8,8[7,6;9,7]	0,83	0,63
--------------------------	---------------	--------------	--------------	------	------

p* - группа 1-3

p** - группа 2-3

Как видно в таблицы 2, пациенты, распределенные в ту или иную группу, были сопоставимы по полу, возрасту и состоянию углеводного обмена.

Обследованные пациенты были преимущественно мужского пола. Пациенты группы 1 имели большую длительность сахарного диабета.

Средний возраст больных составлял 58 ± 11 лет.

Большинство пациентов, распределенных в различные группы периоперационного лечения, страдали сахарным диабетом 2 типа.

У пациентов с СД 1 типа средняя длительность заболевания составляла $21 \pm 6,8$ лет, у лиц с СД 2 типа - $14 \pm 6,5$ лет.

Медиана значений гликированного гемоглобина (HbA1c) у всех обследованных составляло 8,7 [7,6;10]%, что свидетельствует о неудовлетворительном контроле заболевания.

У всех пациентов, включенных в исследование, проводилась оценка выраженности микрососудистых осложнений СД: диабетической полинейропатии, диабетической нефропатии и диабетической ретинопатии. группы статистически не различались по выраженности микрососудистых осложнений сахарного диабета.

Практически у всех больных имелась дистальная диабетическая полинейропатия.

Согласно представленным данным, у 3 пациентов отсутствовали выраженные проявления нейропатии по результатам оценки периферической чувствительности. Однако, наличие сухости кожи и гиперкератозов стоп, а также нарушения работы потовых желез, позволило расценить вышеуказанные симптомы как начальные проявления нарушения периферической иннервации.

Группы незначительно различались по наличию непролиферативной ретинопатии.

По данным лабораторных исследований крови, у обследованных больных отсутствовали признаки острого воспалительного процесса: значения лейкоцитов крови соответствовали нормальным. Не подтверждено наличие анемии и гипопроотеинемии у обследованных лиц: показатели гемоглобина и общего белка крови в пределах референсных для каждой категории больных. У всех больных медиана СКФ (MDRD) (Me[Q25;Q75]) была равна 85 [62;102], что соответствует 2 стадии хронической почечной болезни на фоне диабетической нефропатии.

Таким образом, данные факторы исключены в качестве причин замедленного заживления ран нижних конечностей у пациентов трех групп.

В ходе обследования у всех больных определялось наличие сопутствующей патологии: ишемической болезни сердца (ИБС), постинфарктный кардиосклероз (ПИКС), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) в анамнезе, хроническая венозная недостаточность (ХВН). В графике 1 представлена структура сопутствующих заболеваний у обследуемых групп.

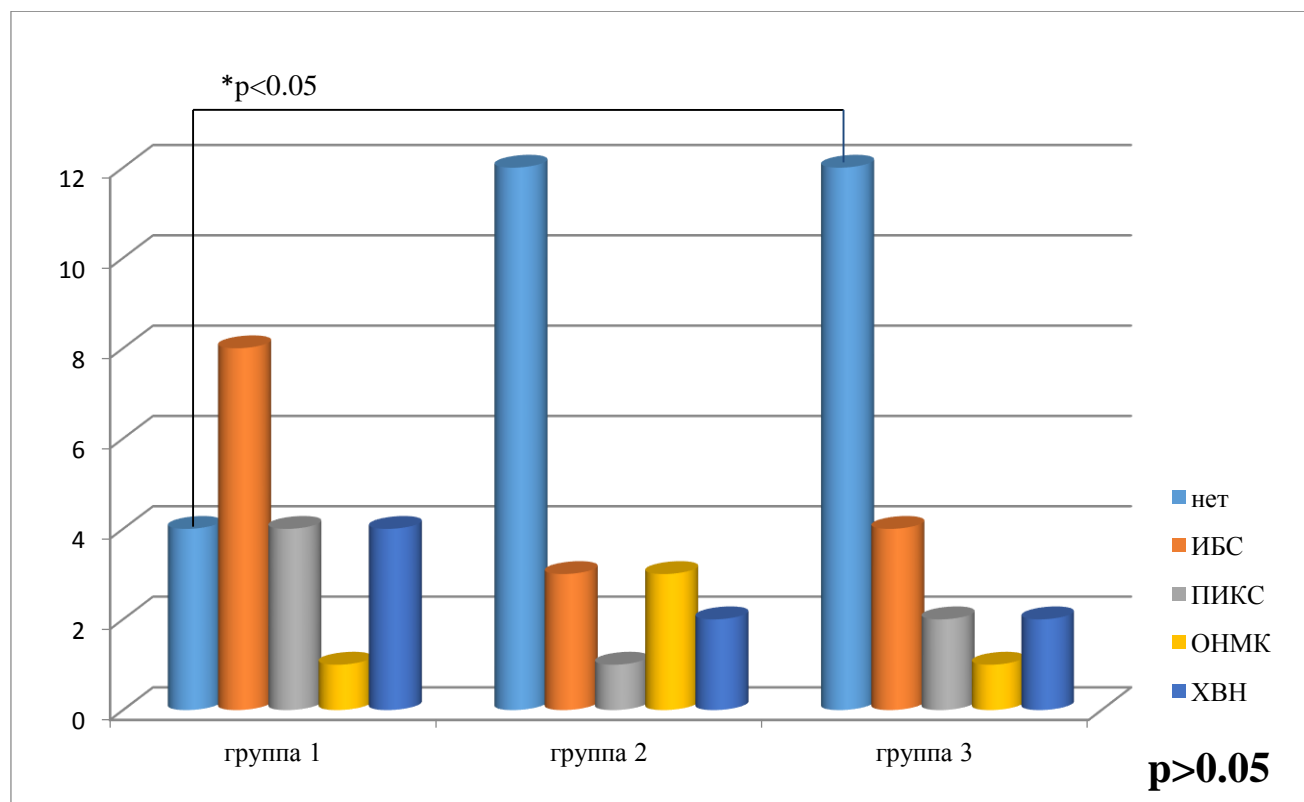


Рисунок 1. Структура сопутствующей патологии у обследованных больных

Таким образом, изученные группы пациентов были достоверно сопоставимы по наличию и характеру сопутствующих заболеваний. У большинства пациентов 1й группы имелась ишемическая болезнь сердца, однако по данному признаку группы статистически не различаются ($p > 0.05$).

В группе 1 у меньшего количества больных отсутствовали сопутствующие заболевания ($p < 0.05$).

Одним из ведущих факторов успешного заживления ран при сахарном диабете является достаточное обеспечение тканей кислородом. Учитывая то, что критерием исключения было наличие критической ишемии нижней конечности, у всех обследованных пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы определялся состоятельный кровоток в артериях этой области по данным доплерометрии и транскутанной оксиметрии, признаков критической ишемии пораженной конечности выявлено не было. В группе 1 показатель $tcpO_2$ составлял 46[38;52] мм рт.ст., в группе 2 - 47[41;51], в группе 3 - 43[38;47]. Статистических различий между группами выявлено не было ($p_{1-3} = 0,29$, $p_{2-3} = 0,19$).

Всем пациентам была проведена хирургическая обработка раневого дефекта, требуемая антибактериальная терапия и разгрузка нижних конечностей. Антибактериальные препараты назначались с целью профилактики вторичного инфицирования ран, которое возможно при смене повязок.

В период стационарного лечения всем пациентам проводилась коррекция сахароснижающей терапии с достижением индивидуальных целевых значений гликемии (Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом 6-й выпуск под редакцией И.И. Дедова и М.В. Шестаковой. – М.: ФГБУ Эндокринологический научный центр, - 2013). Методом случайной выборки больные были распределены в группы периоперационного лечения: первую группу составляли больные,

получавшие терапию отрицательным давлением, вторую группу – пациенты, которым проводилось местное лечение коллаген-содержащими повязками, третью (контрольную) – группа лиц, получавшие стандартную терапию атравматическими повязками.

Учитывая разные механизмы действия выбранных методов местного лечения, группы 1 и 2 между собой не сравнивались.

В ходе обследования было установлено, что все включенные в исследование больные были сопоставимы по выраженности репаративных процессов в мягких тканях нижних конечностей по данным световой микроскопии и иммуногистохимического анализа ($p>0.05$). В ранах обследованных групп отмечался выраженный отек, плохо организованный экстрацеллюлярный матрикс (ЭЦМ), низкое содержание фибробластоподобных клеток и выраженная воспалительная инфильтрация, выявлено наличие молодой грануляционной ткани ($p>0.05$). Подробное описание морфологической картины биоптатов ран до лечения представлены в таблице 3.

Таблица 3. Гистологическая характеристика обследованных групп до начала местного лечения.

Гистологическая характеристика	Группа 1 NPWT	Группа 2 коллаген	Группа 3 контроль	p-value*	p-value**
Фаза раневого процесса, Ме [Q25;Q75]	1[1;1]	1[1;2]	1[1;2]	0,57	0,92
Выраженность отека, медиана Ме [Q25;Q75]	3[3;4]	3[3;4]	4[3;4]	0,95	0,59
Выраженность ЭЦМ, Ме [Q25;Q75]	2[1;2]	1[1;2]	2[1;2]	0,85	0,34

Зрелость грануляционной ткани, Ме [Q25;Q75]	1[1;2]	1[1;2]	1[1;1]	0,77	0,34
--	--------	--------	--------	------	------

p* - группа 1-3

p** - группа 2-3

Несмотря на то, что у многих больных течение раневого процесса было длительным и порой резистентным к местному лечению, проведенная хирургическая обработка позволила перевести хронический процесс в острый. По результатам иммуногистохимического (ИГХ) исследования во всех группах исходно отмечалось умеренное количество макрофагов (иммунопозитивных с антителами к CD68), и интенсивная окраска матриксной металлопротеазы-9, слабое окрашивание TIMP-1 и остеопонтина ($p > 0.05$).

Медиана количества сосудов, определенных с помощью ИГХ с АТ к CD31, до начала лечения представлены в таблице 4, статистически значимых различий между группами выявлено не было.

Таблица 4. Интенсивность репаративных процессов по данным ИГХ до начала терапии.

Маркер репарации	Группа 1 NPWT	Группа 2 коллаген	Группа 3 контроль	p-value*	p-value**
Количество сосудов при окрашивании АТ к CD 31, Ме[Q25;Q75]	46[33;66]	43[19;62]	58[30;95]	0,31	0,15
Количество макрофагов при окрашивании АТ к CD 68, Ме[Q25;Q75]	10[10;15]	15[5;20]	10[5;15]	0,29	0,35
OPN, медиана экспрессии Ме[Q25;Q75]	3[2;3]	3[3;3]	3[2;4]	0,22	0,36

Экспрессия ММР-9, Me[Q25;Q75]	3[2;4]	4[3;4]	4[2;4]	0,37	0,56
Экспрессия TIMP-1, Me[Q25;Q75]	1[1;2]	1[1;2]	2[1;3]	0,24	0,20

p* - группа 1-3

p** - группа 2-3

Обращает на себя внимание тот факт, что в текущем исследовании корреляции между значениями гликированного гемоглобина и скоростью заживления выявлено не было. Кроме того, остальные лабораторные показатели также не оказывали влияния на репаративные процессы мягких тканей.

По результатам проведенного лечения длительностью 9 ± 2 дня выявлено существенное различие в динамике площади и глубины ран на фоне терапии отрицательным давлением по сравнению со стандартной терапией и при сравнении результатов применения терапии коллагеном со стандартным лечением.

Несмотря на то, что различия между группами были недостоверными ($p > 0.05$), имеется четкая тенденция к более выраженному сокращению площади раны в первой группе. Площадь ран уменьшилась на 19,8% [10;37.7] в группе 1, на 26.4 % [11.7; 32.4] – в группе 2, на 17.0% [13.3; 26.7] – в группе 3.

На рисунке 2 и 3 представлены показатели площади ран после проведенного местного лечения.

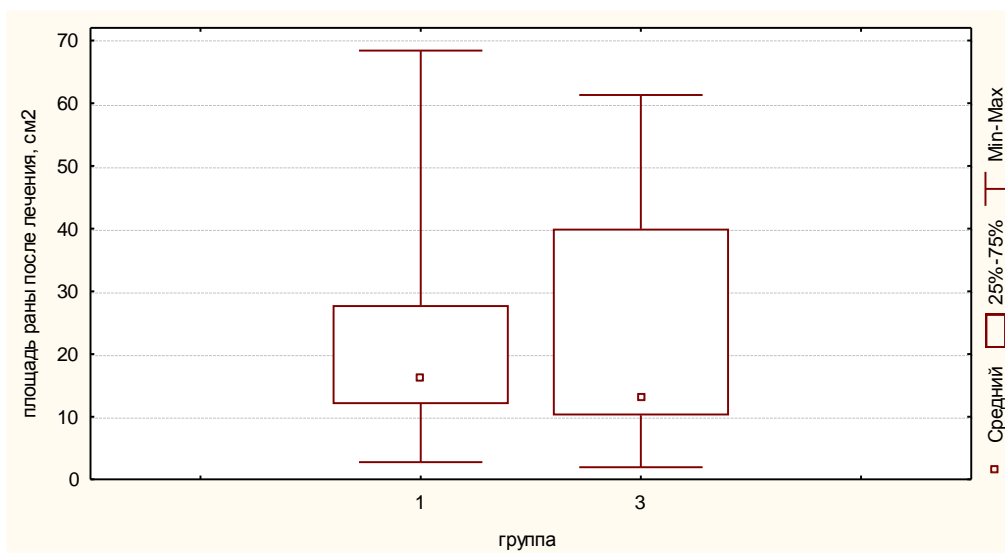


Рисунок 2. Площадь ран после лечения в группах 1 и 3.

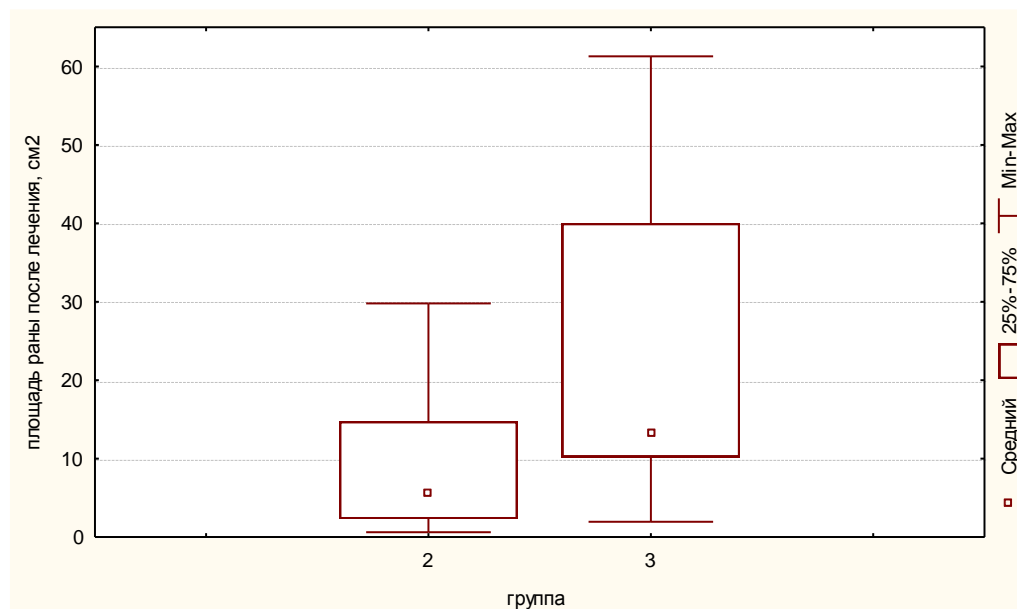


Рисунок 3. Площадь ран после лечения в группах 2 и 3.

Глубина раневых дефектов на фоне лечения сократилась на 42.8% [24.3;60.0] в группе вакуум-терапии, на 30.4% [20.0; 41.1] – в группе коллаген-содержащих повязок, на 16.6% [12.5; 32.2] – в контрольной группе. Различия группы 1 и 2 со стандартным лечением достоверны. На рисунке 4 и 5 изображены значения глубины у обследованных больных на фоне различных методов местного лечения.

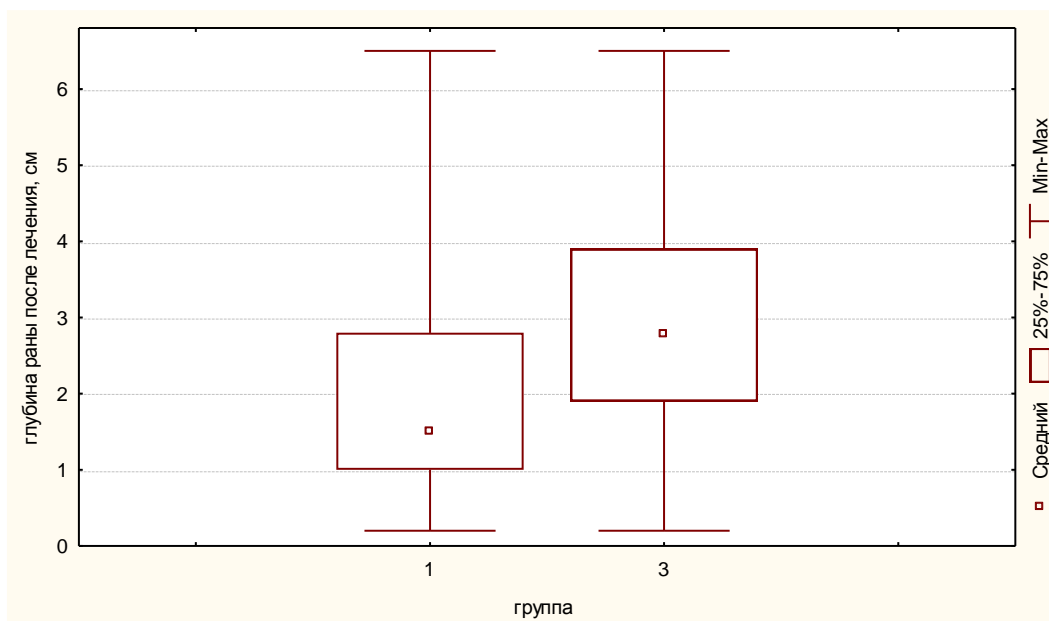


Рисунок 4. Глубина раневых дефектов после лечения в группах 1 и 3.

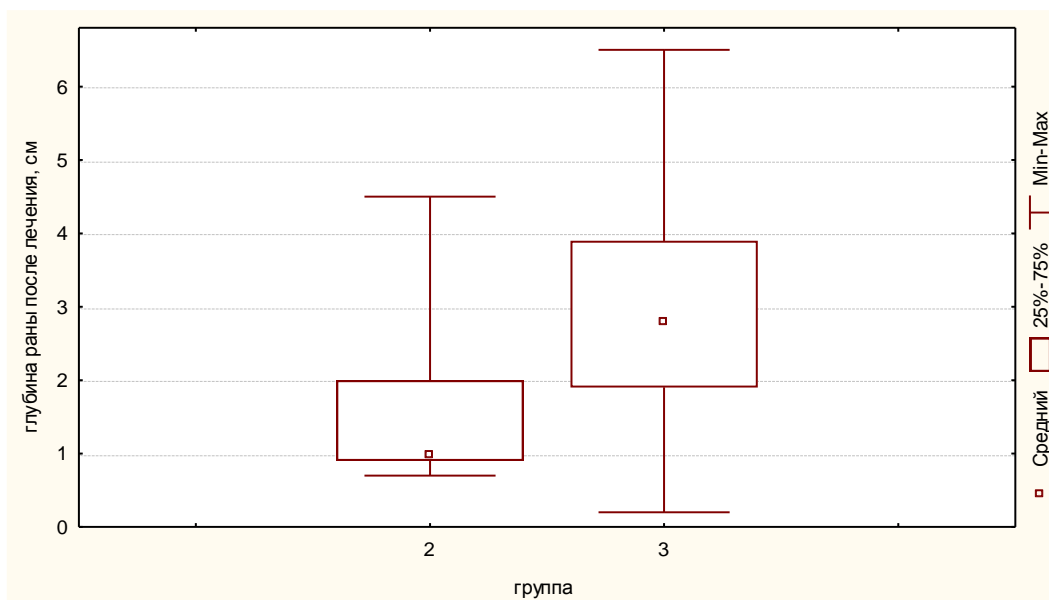


Рисунок 5. Глубина раневых дефектов после лечения в группах 2 и 3.

Обращает на себя внимание тот факт, что терапия отрицательным давлением более эффективно влияла на глубину ран, чем на значения их площади.

В то время, как терапия коллагеном наиболее эффективно влияла на сокращение площади ран, но не глубины.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что как вакуум-терапия, так и применение коллаген-содержащих повязок более эффективно влияет на клинические параметры заживления, чем стандартное местное лечение.

Учитывая тот факт, что терапия отрицательным давлением эффективно сокращает глубину ран после проведенной хирургической обработки, а местное применение коллагена улучшает параметры площади, можно заключить, что применение вакуума является приоритетным у пациентов с глубокими раневыми дефектами и обильной экссудацией.

При обследовании было выяснено, что медиана $tcPO_2$ в группе 1 составляла 46[38;52] мм рт.ст., в группе 2 - 47[41;51], в группе 3 - 43[38;47]. Статистических различий между группами выявлено не было ($p_{1-3} = 0,29$, $p_{2-3} = 0,19$), что свидетельствует о состоятельном артериальном кровотоке в пораженной конечности и отсутствии критической ишемии у обследованных. На фоне проводимого местного лечения зафиксирован достоверный прирост парциального давления кислорода в группе 1: медиана $tcPO_2$ после лечения - 52 мм рт.ст. [48;58] (исходно - 46 [38;52]), $p < 0,01$, значения $tcPO_2$ в группе 2 - 48 [45;53] мм.рт.ст. (до лечения - 47 [41; 51] мм.рт.ст.), $p = 0,18$, в группе 3 - 39 [32;47], (до терапии - 43[38;47] мм.рт.ст.), $p = 0,017$. При сравнении результатов лечения групп 1 и 2 с контрольной были выявлены достоверные различия в полученных результатах ($p < 0,001$ и $p = 0,02$ соответственно).

На рисунке 6 и 7 показаны различия в значениях $tcPO_2$ на фоне проводимой местной терапии.

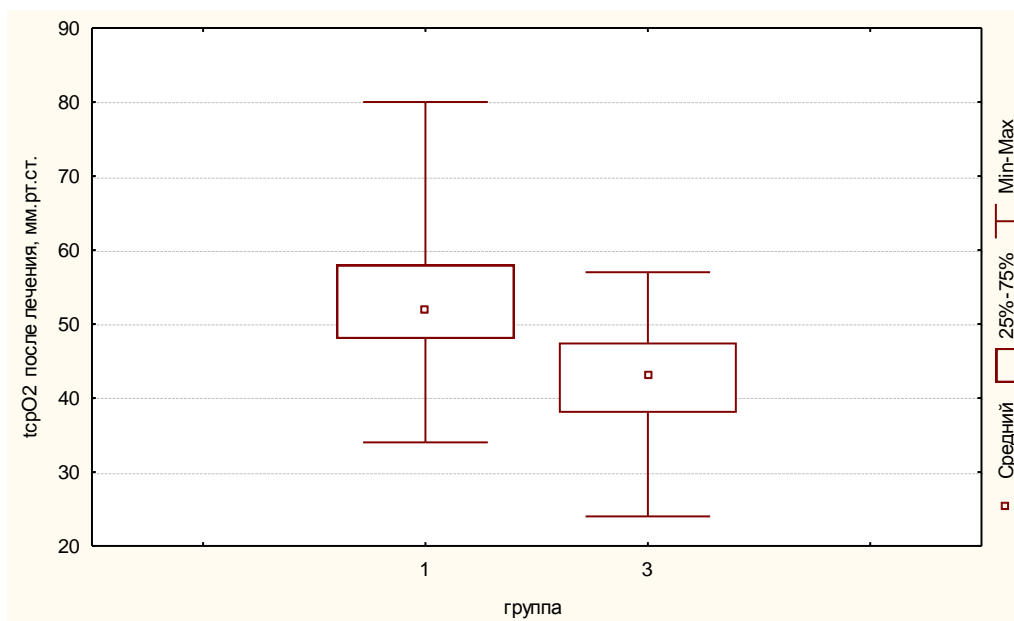


Рисунок 6. Показатели транскутанного напряжения кислорода тканей стоп после лечения в группах 1 и 3.

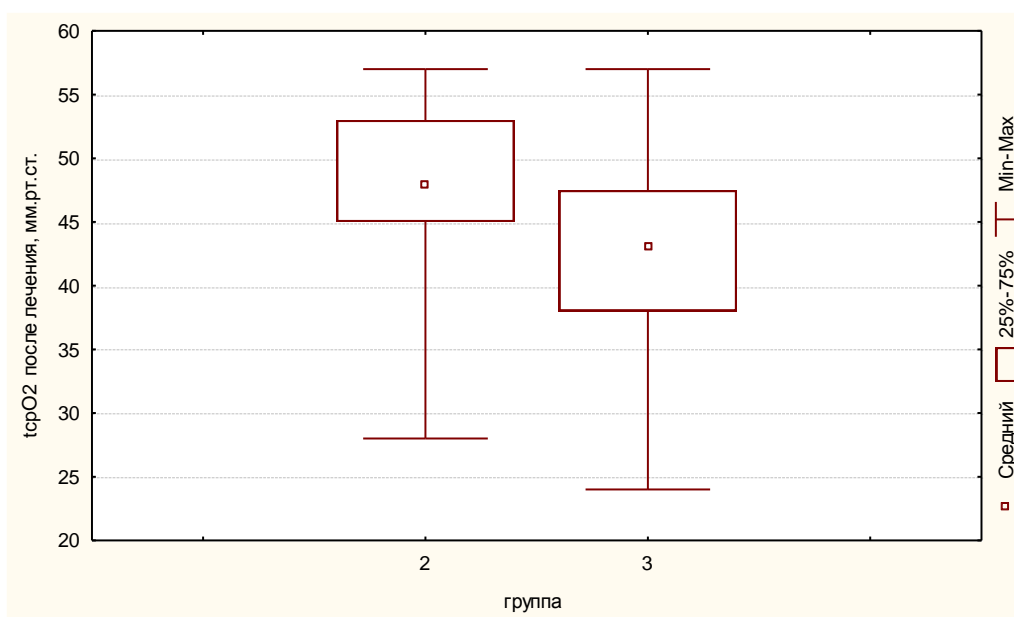


Рисунок 7. Показатели транскутанной оксиметрии тканей стопы после лечения в группах 2 и 3.

Таким образом, можно говорить о том, что терапия отрицательным давлением значительно усиливает локальную микроциркуляцию.

Это значительно улучшает репаративные процессы, увеличивает скорость заживления, а также способствует более эффективному действию

медикаментозной терапии, так как с интенсификацией местного кровоснабжения улучшается доставка антибактериальных препаратов в рану. Обращает на себя внимание незначительное уменьшение локальной микроциркуляции на фоне стандартного лечения, что может быть обусловлено погрешностью метода и сохраняющимся посттравматическим отеком окружающих тканей.

Болевой синдром у пациентов с хроническими ранами стоп является крайне неблагоприятным фактором заживления. Он снижает как качество жизни больных и их приверженность лечению, так и может приводить к замедлению репаративных процессов.

Стоит отметить, что до начала терапии у большинства пациентов болевой синдром был умеренно выражен в результате имеющейся полинейропатии. На фоне лечения во всех группах зафиксирован регресс боли.

Отмечена более выраженная тенденция к снижению интенсивности болевых ощущений на фоне терапии отрицательным давлением и местного применения коллагена по сравнению со стандартным лечением ($p < 0.05$).

Безусловно, это может быть следствием как уменьшения воспаления на фоне комплекса проводимых лечебных мероприятий, так и непосредственным влиянием местного лечения.

Интересно, что никто из больных, включенных в исследование, не отказался от продолжения терапии отрицательным давлением по тем или иным причинам (неудобство, шум, страх и пр.). Этому способствовало и отсутствие неприятных болевых ощущений на фоне проводимого местного лечения.

Кроме того, возможно, уменьшение интенсивности болевого синдрома на фоне вакуум-терапии обусловлено более редкой, по сравнению с другими использованными методами, сменой повязки, а также уменьшением площади поврежденных тканей.

На фоне местного применения коллагена также отмечено уменьшение болевого синдрома по сравнению со стандартной терапией.

В ходе гистологического исследования биоптатов раневых дефектов до лечения было установлено, что все раны были сопоставимы по состоянию репаративных процессов в мягких тканях. У всех больных отмечался выраженный отек, плохо организованный экстрацеллюлярный матрикс, низкое содержание фибробластоподобных клеток и значительный воспалительный инфильтрат ($p>0.05$). Все раны находились в фазе воспаления.

На фоне лечения в группе 1 и 2 удалось достичь более выраженной тенденции к уменьшению межклеточного отека по сравнению с группой контроля, однако полученные различия были статистически недостоверны.

Динамики изменений организации ЭЦМ в результате того или иного метода местного лечения получено не было. Возможно, это объясняется затруднительной оценкой данного параметра при окраске гематоксилин-эозином.

По данным световой микроскопии биоптатов раневых дефектов в группах вакуум-терапии и коллаген-содержащих повязок зафиксирован переход грануляционной ткани от молодой к зрелой, в то время как в контрольной группе грануляционная ткань имела характер созревающей.

Однако, на фоне терапии отрицательным давлением данный переход был статистически достоверен по сравнению с контрольной группой ($p<0.05$), а в группе коллаген-содержащих повязок, различий с контрольной группой получено не было ($p=0.28$).

На рисунке 8 и 9 представлены показатели зрелости грануляционной ткани после местного лечения.

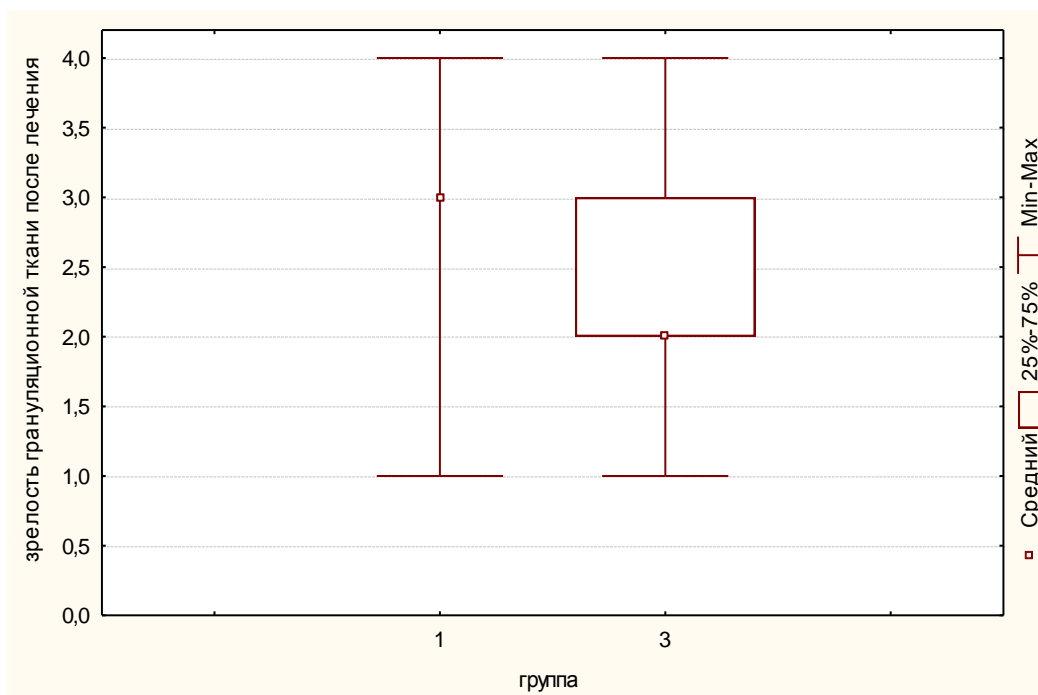


Рисунок 8. Зрелость грануляционной ткани на фоне лечения в группах 1 и 3.

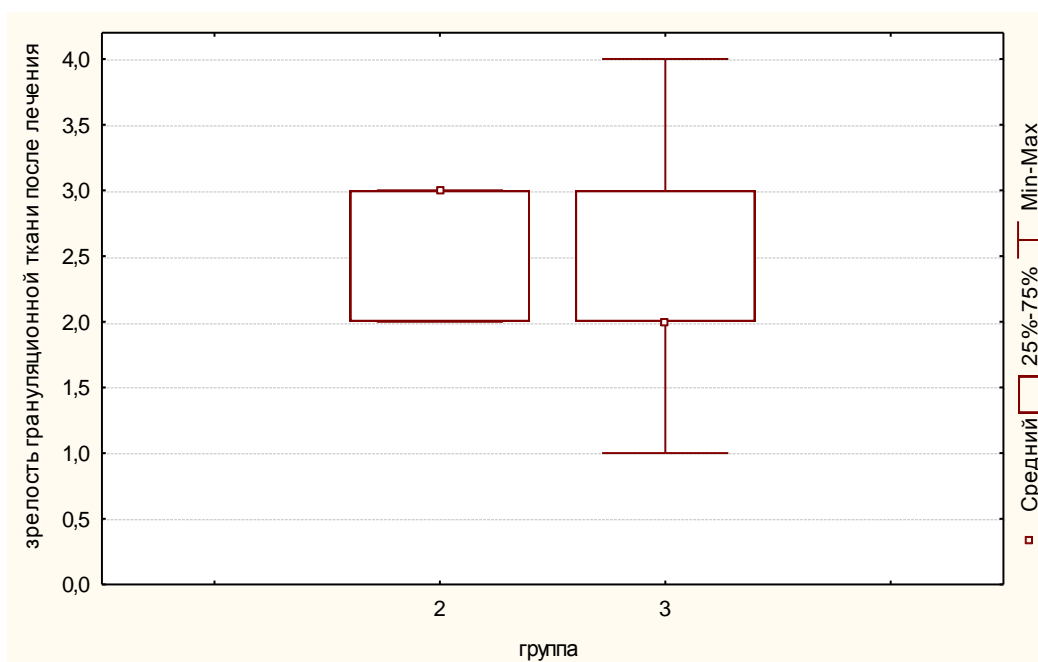


Рисунок 9. Зрелость грануляционной ткани после лечения в группах 2 и 3.

Кроме того, данные морфологической картины демонстрируют достоверный процесс перехода ран из фазы воспаления в фазу эпителизации во всех

обследованных группах, однако статистически значимых различий между группами не отмечено.

При иммуногистохимическом исследовании также было отмечено замедление репаративных процессов в мягких тканях нижних конечностей у обследованных больных с СД.

Зафиксировано замедление неоангиогенеза до начала терапии. При подсчете количества сосудов, окрашенных с помощью маркера эндотелиальных клеток CD31, отмечено небольшое количество сосудов на единицу площади. Так, среднее количество сосудов в биоптатах ран до лечения составляло 57 ± 43 на 1 мм., что также говорит о замедлении процессов репарации у обследованных лиц до начала местного лечения.

На фоне проводимой терапии в группе 1 отмечен наибольший прирост количества сосудов, окрашенных с помощью АТ к CD31: медиана количества сосудов на единицу площади составляла 101 [75; 189], $p < 0.001$. Полученные данные согласуются и с результатами транскутанной оксиметрии, где было зафиксировано существенное усиление локальной микрогемодинамики после лечения. Данные результаты свидетельствуют об интенсивно протекающих репаративных процессах в мягких тканях и могут служить маркером хорошего заживления.

В группе 2 также выявлено увеличение количества сосудов: медиана после лечения составляет 84 [50; 109] на единицу площади, что также является свидетельством перехода раневого процесса в фазу эпителизации.

В группе контроля также отмечено нарастание количества формирующихся сосудов: медиана их количества после лечения 97 [56; 157]. Однако, достоверных различий между группами получено не было.

В ходе настоящего исследования установлено, что уровень экспрессии остеопонтина был снижен у большинства больных.

На фоне лечения отмечается увеличение экспрессии OPN в группах 1 и 2.

При сравнении полученных результатов с данными контрольной группы, статистически достоверных различий не получено. Во всех группах отмечена

тенденция к повышению экспрессии данного маркера заживления, что также является критерием хорошего заживления ран.

У всех больных до лечения отмечается окрашивание средней интенсивности маркера макрофагов CD68.

На лабораторных моделях было доказано, что при СД количество макрофагов в ране накапливается более длительно, что может быть связано с повышением уровня провоспалительных цитокинов и протеаз и сниженным количеством факторов роста..

На фоне лечения в группах 1 и 2 отмечено значимое увеличение количества макрофагов при окраске АТ к CD68. Однако, в контрольной группе данный прирост их количества не был достоверным. При сравнении полученных результатов имеются статистические различия между группой 1 и 3, $p=0.01$, при сравнении групп 2 и 3 аналогичных данных не зафиксировано: $p=0.06$. Таким образом, можно утверждать, что вакуум-терапия эффективно влияет на увеличение количества альтернативно-активированных макрофагов (судя по их фенотипу), что также является показателем перехода раневого процесса в стадию ремоделирования.

До лечения зафиксировано усиление экспрессии MMP-9 и слабое окрашивание TIMP-1, что свидетельствует о высокой протеолитической активности в ранах и, согласно некоторым исследованиям, приводит к замедлению перестройки коллагена и является неудовлетворительным прогностическим признаком заживления ран.

На фоне лечения во всех группах отмечено снижение экспрессии MMP-9 и усиление экспрессии TIMP-1.

В группе 1 зафиксировано значимое снижение MMP-9 ($p<0.01$) и увеличение TIMP-1 ($p=0.009$) на фоне лечения. В группе 2 получен схожий результат: MMP-9 в ходе терапии коллагеном существенно снизился ($p=0.007$), несмотря на тенденцию к увеличению TIMP, данные были недостоверны $p=0.064$.

В контрольной группе также достоверно снижалась экспрессия MMP-9, $p=0.018$, TIMP - без статистически значимой динамики: $p=0.09$.

Был проведен анализ влияния сопутствующих заболеваний на скорость заживления раневых дефектов.

Как видно из таблицы 5, достоверных различий в процессах заживления у лиц без тяжелых сопутствующих заболеваний и с их наличием зафиксировано не было.

Таблица 5. Влияние наличия сопутствующих заболеваний на исходы заживления.

Показатель	Тяжелые заболевания есть, n=35	Тяжелых заболеваний нет, n=28	p-value
Разница площади ран	18,6[9,9;30,3]	26,2[13,4;34,6]	0,116430
Разница глубины ран	30,4[16,6;54,5]	28,9[15,7;40,9]	0,538207

Корреляций между значениями гликированного гемоглобина, а также других лабораторных показателей крови (гемоглобин, белок общ, СКФ) и разницей глубины и площади на фоне всех видов лечения получено не было. Коэффициент корреляции варьирует от -0.02 до 0.02.

В ходе корреляционного анализа отмечено влияние активности TIMP-1 на глубину ран. Так, при большей активности данного показателя на фоне лечения у всех больных, глубина ран была меньше, коэффициент корреляции r (по Спирмену) = -0.19.

Обращает на себя внимание корреляционная зависимость между экспрессией MMP и фазой раневого процесса, коэффициент корреляции r (по Спирмену) = -0.21. Таким образом, наибольшая экспрессия MMP определялась в начальных фазах раневого процесса, а именно в фазе воспаления.

Кроме того, зафиксирована корреляционная связь между значениями TIMP-1 и выраженностью отека, коэффициент корреляции $r_s = -0.21$.

Таким образом, выраженность отека зависела от значений TIMP-1: при повышении экспрессии данного ингибитора MMP, выраженность отека уменьшалась.

На основании анализа полученных данных о влиянии каждого из методов местного лечения ран на клинические и клеточные аспекты заживления, предложен алгоритм ведения пациентов с нейропатической и нейроишемической (без критической ишемии) формами СДС в периоперационном периоде, представленный на рисунке 10.

После проведенной хирургической обработки необходимо оценивать глубину и площадь раневого дефекта. Если послеоперационная рана чистая, отсутствуют признаки воспаления и вторичные некрозы, а также раневой дефект имеет достаточный объем и экссудацию, приоритетным является использование терапии отрицательным давлением с целью более быстрого формирования грануляционной ткани, сокращения размеров дефекта и подготовки раны к следующему этапу лечения.

В случае невозможности выполнения пластического закрытия местными тканями, рекомендуется ведение раны открытым способом до достижения заживления вторичным натяжением. В этом случае показано применение повязок на основе коллагена.



Рисунок 10. Алгоритм периоперационного ведения раневых дефектов после хирургической обработки у лиц с нейропатической и нейроишемической формами СДС.

ВЫВОДЫ

1. У лиц с сахарным диабетом репаративные процессы в мягких тканях замедлены, что выражается в наличии межклеточного отека, плохой организации ЭЦМ, снижении экспрессии остеопонтина и TIMP-1 и сниженном количестве макрофагов по данным окрашивания с АТ к CD68 по результатам гистологического и иммуногистохимического исследований.
2. Терапия отрицательным давлением и коллаген-содержащими повязками эффективно сокращает как площадь, так и глубину раневых дефектов после проведенной первичной хирургической обработки по сравнению со стандартным лечением ($p < 0.05$) у лиц с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы
3. Вакуум-терапия значительно улучшает показатели локальной микрогемодинамики по данным транскутанной оксиметрии по сравнению со стандартной терапией ($p < 0.001$)
4. Терапия отрицательным давлением и местное применение коллагена существенно ускоряют репаративные процессы в мягких тканях нижних конечностей у лиц с СДС по сравнению со стандартным лечением, что выражается в сокращении сроков перехода раневого процесса из фазы воспаления в фазу эпителизации по данным гистологического и иммуногистохимического исследования, которые выявляют снижение количества клеток воспалительного инфильтрата, уменьшение отека и организации экстрацеллюлярного матрикса и формирование зрелой грануляционной ткани, а также увеличение экспрессии маркера макрофагов CD68 и остеопонтина.
5. Успешный процесс заживления ран при синдроме диабетической стопы характеризуется увеличением количества новообразованных сосудов по данным ИГХ (окрашивание маркера эндотелия CD31) ($p < 0.05$)
6. Местное использование отрицательного давления и коллагена приводит к достоверному ($p < 0.05$) снижению уровня экспрессии матриксной

металлопротеазы-9 и тенденции к повышению синтеза тканевого ингибитора металлопротеаз – 1, что ведет к ускорению организации экстрацеллюлярного матрикса и формирования качественной грануляционной ткани.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Современные методы местного лечения (терапия отрицательным давлением, коллаген-содержащие повязки) после первичной хирургической обработки хронических ран должны использоваться дифференцировано в зависимости от объема раны и количества экссудата. Это позволит значительно улучшить терапевтический прогноз и сократит сроки лечения
2. Алгоритм ведения пациентов с раневыми дефектами стоп после хирургической обработки, включающий оценку состояния раны, количества и характера экссудата, транскутанного напряжения кислорода тканей позволит оптимизировать лечебный процесс и существенно сократить сроки пребывания больного в стационаре.
3. Определение таких иммуногистохимических маркеров как CD31, CD68, остеопонтин, а также MMP-9 и TIMP-1 позволяет точно оценить интенсивность репаративных процессов в мягких тканях у лиц с различными формами синдрома диабетической стопы и может быть рекомендовано в качестве модели оценки выраженности репарации при проведении клинических исследований.
4. Усиление локальной микрогемодинамики по данным транскутанной оксиметрии на фоне проводимого лечения является предиктором хорошего заживления ран и быть рекомендовано к широкому использованию.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Зайцева Е.Л., Токмакова А.Ю. «Вакуум-терапия в лечении хронических ран»// Сахарный диабет – 2012. - №3. с.45-49.
2. Галстян Г.Р., Доронина Л.П., Зайцева Е.Л. «Синдром диабетической стопы в практике хирурга амбулаторного звена»//Consilium medicum приложение Хирургия - 2013 - №1. с.29-37
3. Зайцева Е.Л., Токмакова А.Ю. «Роль факторов роста и цитокинов в репаративных процессах в мягких тканях у больных сахарным диабетом»// Сахарный диабет. 2014; №1: с. 57-62.
4. Зайцева Е.Л., Доронина Л.П., Молчков Р.В., Воронкова И.А., Митиш В.А., Токмакова А.Ю. «Влияние терапии отрицательным давлением на репаративные процессы в мягких тканях нижних конечностей у пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы»// Сахарный диабет. 2014. №3. с. 113-120
5. Зайцева Е.Л., Доронина Л.П., Молчков Р.В., Воронкова И.А., Митиш В.А., Токмакова А.Ю. «Особенности репарации тканей у пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы на фоне терапии отрицательным давлением»// Вестник хирургии им.Грекова. 2014. № 5. с.64-73
6. Токмакова А.Ю., Зайцева Е.Л., Доронина Л.П., Молчков Р.В., Воронкова И.А. «Влияние местного применения коллагена на активность репаративных процессов в мягких тканях нижних конечностей у больных с синдромом диабетической стопы»// Терапевтический архив – в печати
7. E. Zaytseva, A. Tokmakova. “Clinical case of diabetic foot ulcer treated with VAC-therapy”// Abstract book of 23th EWMA conference 15-17 may 2013
8. E. Zaytseva, L. Doronina, R. Molchkov , A. Tokmakova. “Clinical and histological progress of diabetic foot ulcers under NPWT”// Abstract book of 24th EWMA conference 14-16 may 2014
9. Зайцева Е.Л., Доронина Л.П., Молчков Р.В., Воронкова И.А., Токмакова А.Ю. «Влияние терапии отрицательным давлением на репаративные процессы в мягких тканях нижних конечностей у пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы»// Сборник тезисов II Всероссийского конгресса

10. E.Zaytseva, L.Doronina, R.Molchkov, I.Voronkova, V.Mitish, A.Tokmakova. "Effects of negative pressure wound therapy on tissue repair in patients with diabetic foot ulcers"//Abstract book of 2nd EYES Meeting, Belgrade 24-26 September 2014 , p.26
11. E.Zaytseva, L.Doronina, R.Molchkov, I.Voronkova, V.Mitish, A.Tokmakova. Negative pressure wound therapy effects on tissue repair in patients with diabetic foot ulcers// Abstract book of 26th YARE conference 10-12 October 2014
12. Зайцева Е.Л., Доронина Л.П., Молчков Р.В., Воронкова И.А., Токмакова А.Ю. «Особенности репаративных процессов в мягких тканях нижних конечностей у пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы на фоне различных методов местного лечения»// Сборник тезисов VII Всероссийского диабетологического конгресса «Сахарный диабет в XXI веке – время объединения усилий», Москва 25-27 февраля 2015, с.179-180
13. E.Zaytseva, L.Doronina, R.Molchkov, I.Voronkova, V.Mitish, A.Tokmakova. Soft tissue repair changes in patients with diabetic foot ulcers after NPWT and standard management // Abstract book of 7th international symposium on the diabetic foot, Hague, 19-23 May , 2015

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АД** – артериальное давление
АСБ – атеросклеротическая бляшка
ГАБ – глубокая артерия бедра
ЗББА – задняя большеберцовая артерия
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИГХ – иммуногистохимия
ИМТ – индекс массы тела
ЛЖ – левый желудочек
ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

МАУ – микроальбуминурия

МБА – малоберцовая артерия

ОБА – общая бедренная артерия

ОНМК - острое нарушение мозгового кровообращения

ПА – подколенная артерия

ПБА – поверхностная бедренная артерия

ПББА – передняя большеберцовая артерия

ПИКС - постинфарктный кардиосклероз

ПССП – пероральная сахароснижающая терапия

ПУ – протеинурия

СД – сахарный диабет

СДС – синдром диабетической стопы

СКФ - скорость клубочковой фильтрации

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ТАС – тыльная артерия стопы

ХБП – хроническая болезнь почек

ХВН - хроническая венозная недостаточность

ХЕ – хлебные единицы

ХПН – хроническая почечная недостаточность

ХСН - Хроническая сердечная недостаточность

ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс

EGF – эндотелиальный фактор роста

FGF – фактор роста фибробластов

GM-CSF - колониестимулирующий фактор роста гранулоцитов и макрофагов

HbA1c – гликированный гемоглобин

IGF – инсулиноподобный фактор роста

IL - интерлейкин

M1 – классически активированные макрофаги

M2 – альтернативно активированные макрофаги

MMP – матриксная металлопротеаза

NO – оксид азота

NPWT - negative pressure wound therapy, терапия отрицательным давлением

OPN - остеопонтин

PDGF – фактор роста тромбоцитов

SPG – стереофотограмметрия

tcpO₂ – транскутанное напряжение кислорода

TFGF – трансформирующий фактор роста

TIMP – тканевой ингибитор металлопротеаз

TNF α – фактор некроза опухоли α

TNP - topical negative pressure treatment, терапия локальным отрицательным давлением

VAC - vacuum-assisted closure, вакуум-ассистированная повязка

VEGF – сосудисто-эндотелиальный фактор роста

VeV – видеометрия