

*А. А. Троянов¹, Г. Г. Кондратенко¹, М. П. Потапнев¹,
И. М. Храпов², С. И. Кривенко³, О. В. Левандовская³*

ПЕРВЫЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ КОЖНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ С ПОМОЩЬЮ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»¹,
УЗ «10-я городская клиническая больница» г. Минска²,
УЗ «9-я городская клиническая больница» г. Минска³*

Цель. Оценить эффективность клинического применения аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ), при местном лечении диабетических язв кожи у пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС).

Материалы и методы. В статье описаны условия получения и способ нанесения ПОРФТ на диабетическую рану кожи, прослежен процесс заживления ран кожи в разные сроки при лечении пациентов с СДС.

Результаты. Показано, что разработанный метод применения ПОРФТ является эффективным и щадящим при местном лечении длительно незаживающих язв кожи размером 8,4 и 15,8 см² у пациентов с сахарным диабетом, получавшим стандартную комплексную терапию в условиях стационара. После повторного применения ПОРФТ в амбулаторных условиях достигнуто полное заживление ран кожи в течение 4–6 недель наблюдения. Применение аутологичной ПОРФТ у диабетиков позволило достигнуть полного заживления кожных ран, сохранившихся более 6 месяцев.

Заключение. Использование аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, эффективно для местной терапии поражений кожи у пациентов с сахарным диабетом.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы; аутологичная плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов, заживление, кожные раны.

**A. A. Troyanov, G. G. Kondratenko, M. P. Potapnev,
I. M. Khrapau, S. I. Krivenko, O. V. Levandovskaya**

LOCAL THERAPY OF DIABETIC FOOT ULCERS BY PLATELET-RICH PLASMA

Aim. To present examples of effective use of autologous platelet-rich plasma (PRP) for local therapy of diabetic foot ulcers in patients.

Material and Methods. The article describes clinical cases of two patients suffering from diabetic foot syndrome and underwent with local therapy by PRP. Conditions for PRP preparation and application as well as monitoring of skin wound healing were evaluated.

Results. The data show that elaborated method of PRP application is effective and suitable for healing of wounds of 8,4 and 15,8 cm² in size in two patients, treated in city hospital. Repeated application of PRP in outpatient conditions 2 weeks later was enough for closing of diabetic foot ulcers to 4–6 weeks after starting of therapy. Healing effect of PRP was stable for more than 6 months of observation.

Conclusion. We concluded that autologous PRP should be reasonable medication for therapy of diabetic foot ulcers in patients.

Key words: diabetic foot ulcer, autologous platelet-rich plasma, healing, cutaneous wounds.

Сахарный диабет (СД) – широко распространенное и тяжелое эндокринное заболевание, связанное с нарушением метаболизма глюкозы в результате дефицита инсулина и имеющее множество тяжелых осложнений. Распространенность СД среди населения экономически развитых стран составляет около 6 %. По данным ВОЗ количество больных СД удваивается каждые 15 лет и к 2025 году их число может увеличиться до 330 млн человек. В Республике Беларусь сахарным диабетом болеет около 4 % населения, причем ежегодно около 20 тыс. человек пополняет ряды пациентов с СД [1, 2, 4, 5]. Одним из грозных осложнений СД является поражение кожи нижних конечностей как результат диабетической ангиопатии и нарушения трофики кожи. Формирование трофических поражений кожи сопровождается локальной потерей кожной чувствительности (нейротрофическими расстройствами) и присоединением инфекции, что определяет основные черты синдрома диабетической стопы (СДС). Образование хронических, медленно заживающих кожных язв и других воспалительно-некротических мягких тканей ног при синдроме диабетической стопы увеличивает риск развития гангрены нижних конечностей в 20 раз, на долю данной категории пациентов приходится 50–70 % общего количества ампутаций нижних конечностей. Количество больных, умерших в течение первых трех лет после ампутации, достигает 35 %, а в течение 5 лет – 60–75 %. Более чем в 70 % случаев у больных сахарным диабетом ампутации нижних конечностей предшествует случайное повреждение кожи

или образование язвы стопы. В целом диабетические язвы стоп развиваются у 15 % больных в течение жизни и наблюдаются у 6–20 % госпитализированных больных. Продолжительность пребывания больных с диабетическими язвами стоп в стационаре превышает таковую больных сахарным диабетом без язв на 60 % [1–3].

Лечение СДС является комплексным и предполагает проведение медикаментозной терапии с применением различных фармакологических средств для улучшения кровоснабжения, иннервации, заживления кожных ран [4, 5]. Одним из новых современных подходов местной терапии СДС является применение плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ)/platelet-rich plasma (PRP). Согласно данным специальной литературы ПОРФТ содержит множество биологически активных субстанций, включая: ростовые факторы (TGF- β , PDGF-AB, EGF, β -FGF, IGF-1, CTGF, PRPG, KRF, IL-1 β , тромбоспондин-1/TSP), ангиогенные факторы (PDGF, VEGF, β -FGF, HGF, IGF-1, MMP-2, TSP-1, PAF, CXCL4/PF4, SDF-1 α , IL-1 α/β , IL-6, IL-8, GRO- α , TPO, GM-SCF, G-SCF, angiopoietin-1,2), факторы заживления ран (CTGF, MMP-2, MMP-9, фибронектин, TGF- β , тромбоспондин, KRF), антимикробные факторы (PF-4, β -дефензин, NAP-2, RANTES тромбоспондин-1,2, thymosin β -4) и некоторые другие [6, 7].

Нами разработана технология получения аутологичной ПОРФТ из крови пациентов и последующего его применения в виде геля, наносимого на диабетические язвы кожи (патент на изобретение № а 20150471). Проведен

эксперимент на лабораторных животных, получены положительные результаты, после чего в установленном порядке, метод апробирован в клинике на базе городского Центра «Диабетическая стопа» (УЗ «10-я ГКБ» г. Минска). В Центре «Диабетическая стопа» концентрируются пациенты с хирургическими осложнениями СД, где на основе мультидисциплинарного подхода, они получают специализированное стационарное лечение, включая оперативные вмешательства на сосудах, костях и мягких тканях нижних конечностей. Ежегодно осуществляется порядка 800 госпитализаций профильных пациентов из г. Минска, других регионов республики и зарубежья. В Центре постоянно проводится научно-исследовательская работа, совершенствуются существующие и разрабатываются новые методы оказания помощи пациентам с СДС. Местное использование ПОРФТ в клинике у пациентов с СДС нами выполнено впервые, оно выполнялось после получения информированного согласия пациента на процедуру сдачи крови как аутодонора и на процедуру нанесения на рану кожи приготовленного из нее средства (инструкция по применению метода №085-0915). В настоящем сообщении приводятся результаты первого клинического опыта применения аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов.

Материалы и методы

Описание клинических наблюдений

Пациент Ц., 57 лет, получал стационарное лечение в городском центре «Диабетическая стопа» по поводу сахарного диабета 2 типа, стадия клиничко-метаболической компенсации. Синдрома диабетической стопы, нейроишемической формы, инфицированной раны правой стопы. Сахарным диабетом страдает 12 лет, рана по внутренней поверхности правой стопы возникла около года назад после термического ожога. В течение года пациент лечился амбулаторно – безрезультатно. На момент поступления у пациента имелась длительно незаживающая рана кожи латеральной поверхности правой стопы площадью 8,4 см² со скудным отделяемым, в глубине раны – вялые грануляции, что соответствовало 2 степени классификации язвенного дефекта по Вагнеру. Проводилось комплексное медикаментозное лечение, включающее инсулин, мексibel, диклофенак, фамотидин, аспикард, диабетон MR, метформин, цефепим. Вначале выполняли перевязки с использованием растворов антисептиков: хлоргексидина, калия перманганата, фурацилина, затем местно применяли мазь левомеколь, левосин. Ввиду малой эффективности проводимого лечения предложено применить лечебную технологию с использованием ПОРФТ из собственной крови. Пациент дал информированное согласие на забор крови и лечение аутологичной ПОРФТ. Выполнено обследование на соответствие критериям аутодонорства крови [8]. Уровень глюкозы крови при поступлении – 8,8 ммоль/л, уровень гликированного Hb, перед началом лечения с применением препарата ПОРФТ – 8,2 %. Результаты обследования на маркеры инфекционных заболеваний – отрицательные. В условиях отделения переливания крови УЗ «9-я ГКБ» г. Минска у пациента произведен забор 350 мл крови, из которой выделен концентрат тромбоцитов и приготовлена ПОРФТ. Перед применением ПОРФТ рана обработана раствором перекиси водорода, затем физиологическим раствором и раствором 10 % глюконата кальция. ПОРФТ на-

носили на всю поверхность раны и сразу добавляли раствор человеческого тромбина (20 ЕД/мл) для формирования плотного геля. Затем рану, покрытую гелем ПОРФТ, подсушивали в течение 1–2 минут и оставляли без прикрытия марлевой повязкой. Визуализацию раневой поверхности до нанесения ПОРФТ и на этапах лечения осуществляли путем фотографирования (рисунок, а), дальнейшее наблюдение за раневым процессом выявило положительную динамику, раны выполнены грануляциями, началась активная эпителизация от краёв, отмечено уменьшение площади кожной раны с 8,4 см² до 3,5 см². Пациент выписан на амбулаторное лечение. Через 2 недели после первого нанесения ПОРФТ амбулаторно выполнено повторное нанесение ПОРФТ на рану с формированием геля путем добавления тромбина. Контрольные еженедельные осмотры показали, что полное заживление раны наступило в срок 4 недели после первичного нанесения препарата ПОРФТ. Пациентом также отмечено исчезновение болевого синдрома, значительно улучшилось качество жизни. Последующий контроль через 6 и 12 месяцев не выявил нарушений кожного покрова в месте нанесения ПОРФТ.

Второе клиническое наблюдение связано с оказанием помощи пациенту К., 63 года, который лечился по поводу сахарного диабета 2 типа в стадии клиничко-метаболической субкомпенсации. Синдрома диабетической стопы, нейропатической формы, инфицированной длительно незаживающей раны левой стопы. Данный пациент страдал сахарным диабетом более 5 лет, рана пяточной области возникла после инфицирования трещины стопы около 8 месяцев назад. При поступлении в городской Центр «Диабетическая стопа» наблюдался выраженный болевой синдром, инфицированная рана кожи имела размер 15,8 см², что соответствовало 2 степени классификации язвенного дефекта по Вагнеру.

Результаты анализа периферической крови: гемоглобин – 139 г/л, эритроциты – $4,58 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты – $8,06 \times 10^9$ /л, палочкоядерные нейтрофилы – 4 %, сегментоядерные нейтрофилы – 63 %, эозинофилы – 5 %, моноциты – 8 %, лимфоциты – 20 %, СОЭ – 25 мм/час. Уровень глюкозы крови при поступлении – 18,2 ммоль/л, перед началом лечения с применением ПОРФТ – в пределах нормы. Уровень гликированного гемоглобина при поступлении – 11,1 %, перед началом лечения с применением ПОРФТ – 8,9 %, АЧТВ при поступлении – 27 сек. Пациент получал медикаментозное лечение включающее инсулинотерапию, эмоксипин, мексibel, диалипон, анальгин, лизиноприл, индап, ципрофлоксацин. Местное лечение раны левой стопы проводилось с использованием растворов калия перманганата, хлоргексидина, бетадина, однако оно было малоэффективным. В этой связи было предложено лечение с технологией ПОРФТ, на что пациент дал информированное согласие и был обследован на соответствие критериям аутодонорства крови [8]. Произведен забор 350 мл крови, и приготовлена ПОРФТ, которую наносили на рану кожи пациента по вышеописанной методике. Результаты последующего наблюдения выявили положительную динамику заживления раны (см. рисунок, б).

После контрольного осмотра через 7 дней пациент переведен на амбулаторный режим. В дальнейшем контрольные осмотры проводились еженедельно. Через 14 дней после туалета раны выполнено повторное нанесение ПОРФТ. Полное заживление раны отмечено в срок 6 недель после первичного применения предложенной методики. В про-

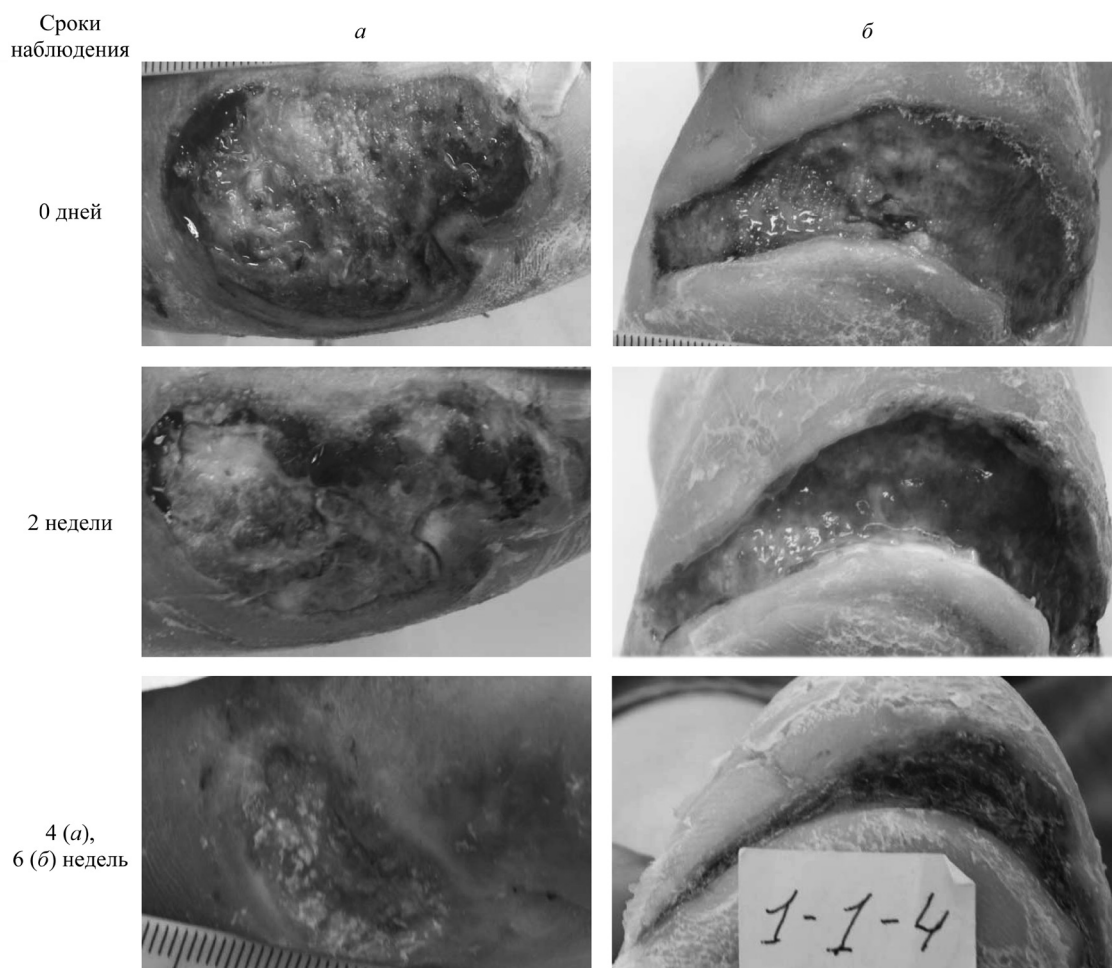


Рисунок. Динамика заживления раны кожи у пациентов с сахарным диабетом под действием аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов

цессе лечения пациент также отмечал исчезновение болевого синдрома и значительное улучшение качества жизни. Последующий контроль через 6 и 12 месяцев не выявил нарушений кожного покрова на месте применения ПОРФТ.

Результаты и обсуждение

Первые клинические наблюдения характеризуют эффективность применения аутологичной ПОРФТ для лечения поражений кожи нижних конечностей у пациентов с СД. В настоящее время за рубежом активно обсуждается вопрос о включении ПОРФТ в протоколы оказания медицинской помощи с учетом высокой эффективности в абсолютном большинстве клинических наблюдений при отсутствии осложнений [7, 11]. Несмотря на то, что метод получения ПОРФТ известен с 1986 года [9], его трудно стандартизировать [10]. Возможно, это связано с использованием аутологичной крови для приготовления ПОРФТ [11–13]. Разнообразие технологий получения ПОРФТ включает использование 20–60 мл периферической крови для одноразового применения в ручном или автоматическом режиме, или дозы цельной крови, или дозы аферезных тромбоцитов для многократного применения [11, 12, 14]. В то же время общепризнано, что концентрат тромбоцитов для получения ПОРФТ должен содержать не менее $1,0 \times 10^9$ тромбоцитов в 1 мл взвеси, для получения бесклеточной субстанции концентрат тромбоцитов обычно замораживают и оттаивают [11, 14].

Одним из наименее стандартизированных элементов лечебной технологии является также процедура нанесения ПОРФТ в гелеобразном состоянии. Разработанная нами технология формирования геля ПОРФТ непосредственно на поверхности раны предусматривает предварительное очищение от некротического клеточного детрита и промывание раствором 3 % перекиси водорода. Перед нанесением ПОРФТ раневую поверхность необходимо обязательно обрабатывать стерильным раствором 10 % кальция глюконата, а непосредственно после нанесения ПОРФТ на поверхность раны следует добавлять раствор человеческого тромбина (20 ЕД/мл). Это позволяет сразу местно сформировать гель, плотно фиксирующийся на поверхности раны, что не требует дополнительной фиксации его перевязочным материалом.

Как показывают наши экспериментальные данные и данные других авторов, лечебный эффект ПОРФТ включает местное антибактериальное, противовоспалительное, ангиогенное, нейротрофическое действия, стимуляцию миграции и пролиферацию кожных фибробластов, мезенхимальных стволовых клеток, кератиноцитов, ремоделирование тканевого дефекта [14–17]. Вопрос частоты нанесения ПОРФТ на рану является дискуссионным и, как правило, предполагает его нанесения 2–8 раз в месяц в течение 1–8 месяцев лечения до достижения максимального результата – закрытие ран в 80–90 % случаев [7, 11, 12]. Нами применялось двукратное нанесение ПОРФТ через

2 недели, выявлена возможность и эффективность осуществлять этот вид процедуры в амбулаторных условиях. Формирование плотного геля, в отличие от большинства описанных ранее методов, позволило отказаться от дополнительного закрытия области раны фиксирующей бинтовой повязкой. Только в случае локализации раны на неровной поверхности нижних конечностей (сгиб, подошвенная поверхность) ее следует дополнительно закрывать сухой салфеткой, фиксированной пластырем.

Важным моментом предложенной лечебной технологии является отбор пациентов. Как и другие авторы, мы применяли данную технологию пациентам в состоянии клинико-метаболической компенсации СД (уровень гликированного гемоглобина не более 9,0 %, уровень глюкозы в венозной крови не выше 9,0 ммоль/л), при отсутствии активного инфекционного процесса (нормальная температура тела; уровень лейкоцитов периферической крови менее $9,0 \times 10^9$ /л). При наличии системного воспалительного ответа предварительно следует проводить антибиотикотерапию с учетом чувствительности раневой микрофлоры [4]. Также следует учитывать гематологические показатели на предмет их соответствия для аутодонорства крови [8]. При определении показаний к применению ПОРФТ использовали общепризнанные, в том числе площадь раны до 100 см², 1–2 стадия классификации язвенного дефекта по Вагнеру. Между тем, описана высокая эффективность применения ПОРФТ по ускорению заживления некротических язв 3 и даже 4 стадий повреждения по Вагнеру [18].

Важным является то, что закрытие раны у диабетиков с помощью ПОРФТ не требует перевязок и другого медицинского ухода за раной, кроме случаев возможного незначительного мокнутия раны, которое купируется повторным нанесением ПОРФТ по вышеописанной методике. Полное заживление ран в представленных клинических наблюдениях наступило через 4 недели и 6 недель. При этом уже через 3–4 дня отмечалось значительное уменьшение отека в области раны и болей в пораженной конечности при движении. Улучшение общего состояния здоровья сопровождалось нормализацией гематологических показателей. Через 6 и 12 месяцев наблюдения пациенты чувствовали себя хорошо и за медицинской помощью по поводу кожных ран не обращались.

Выводы

1. Первый клинический опыт местного применения плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, полученной из аутологичной периферической крови, свидетельствуют о высокой эффективности при лечении кожных повреждений у пациентов с СД.

2. Для использования предложенной лечебной технологии при длительно незаживающих повреждениях кожи у диабетиков необходим тщательный отбор пациентов согласно инструкции по применению.

3. Установлена возможность применения данной технологии лечения пациентов с СДС в амбулаторных условиях.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии явного и потенциального конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Литература

1. Дедов, И. И., Анциферов М. Б., Галстян Г. Р., Токмакова А. Ю. Синдром диабетической стопы. – М.: ФДЦ МЗ РФ, 1998. – Т. 4.
2. Laing, P. The development and complications of diabetic foot ulcers / American J. Surgery. 1998; 176 (Suppl 2A): 11S–19S.
3. Jeffcoate, W. J., Harding K. G. Diabetic foot ulcers [Electronic resource]. Lancet. 2003; 361: 1545–1551. – Access of mode: <http://image.thelancet.com/extras/02art6190web.pdf>.
4. Steed, D. L., Attinger Ch., Colaizzi T. et al. Guidelines for the treatment of diabetic ulcers // Wound Repair and Regeneration. 2006; 14: 680–692.
5. Tsourdi, E., Barthel A., Rietzsch H. et al. Current aspects in the pathophysiology and treatment of chronic wounds in diabetes mellitus [Electronic resource] // BioMed Research International. Vol. 2013, art. ID 385641, 6 pages. – Access of mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/385641>.
6. Villela, D. L., Santos V. C. G. Evidence on the use of platelet-rich plasma for diabetic ulcer: A systemic review. Growth Factors. 2010; 28(2) 111–116. doi: 10.3109/08977190903468185.
7. Picard, F., Hersant B., Bosc R., Meningaud J.-P. The growing evidence for the use of platelet-rich plasma on diabetic chronic wounds: A review and proposal for a new standard care. Wound Repair and Regeneration. 2015; 23 (5): 638–643. doi:10.1111/wrr.12317.
8. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 03.09.2012 г., № 981 «Об утверждении инструкции о порядке предоперационной заготовки аутологичной крови и ее компонентов».
9. Knighton, D. R., Ciresi K. F., Fiegel V. D. et al. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). Annals of Surgery. – 1986. – № 204. – P. 322–330.
10. Harm, S. K., Fung M. K. Platelet-rich plasma injections: out of control and on the loose? Transfusion. – 2015. – № 55 (7). – P. 1596–1598.
11. Crovetti, G., Martinelli G., Issi M. et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. Transfusion and Apheresis Science. 2004; 30:145–151. doi: 10.1016/j.transci.2004.01.004.
12. Shan, G.-Q., Zhang Y.-N., Ma J. et al. Evaluation of the Effects of Homologous Platelet Gel on Healing Lower Extremity Wounds in Patients With Diabetes. The International Journal of Low Extremity Wounds. 2013; 12(1): 22–29. Doi: 10.1177/1534734613477113.
13. Kontopodis, N, Tavlas E, Papadopoulos G, et al. Effectiveness of platelet-rich plasma to enhance healing of diabetic foot ulcers in patients with concomitant peripheral arterial disease and critical limb ischemia. The International Journal of Lower Extremity Wounds. 2015 March, 1–7 doi: 10.1177/1534734615575829.
14. Borzini, P., Mazzucco P. Tissue regeneration and in loco administration of platelet derivatives: clinical outcome, heterogeneous products, and heterogeneity of the effector mechanisms. Transfusion. 2005; 45(11): 1759–1767. doi:10.1111/j.1537-2995.2005.00600.x.
15. Backly, R. El., Ulivi V., Tonachini L. et al. Platelet lysate induces in vitro wound healing of human keratinocytes associated with a strong proinflammatory response. Tissue Engineering Part A. 2011; 17(13–14): 1787–1800. doi: 10.1089/ten.tea.2010.0729.
16. Поталнев, М. П., Арабей А. А., Кондратенко Г. Г. и др. Растворимые факторы тромбоцитов и регенеративная медицина // Здравоохранение. – Минск, 2014. – № 9. – С. 32–40.
17. Renn, T.-Y., Kao Y.-H., Wang C.-C., Burnouf T. Anti-inflammatory effects of platelet biomaterials in a macrophage cellular model. Vox Sanguinis. 2015; 109(2); 138–147. Doi: 10.1111/vox.12264.
18. Mazzucco, L., Medici D., Serra M. et al. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study. Transfusion. – 2004. – № 44 (7). – P. 1013–1018.

Поступила 01.11.2017 г.