

М. П. Потапнев¹, Г. Г. Кондратенко¹,
А. А. Троянов¹, А. Д. Карман¹, С. И. Кривенко²,
Е. А. Назарова², О. В. Левандовская²

ВОЗМОЖНОСТИ АУТОДОНОРСТВА КРОВИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКИХ ЯЗВ КОЖИ

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

В статье на основании анализа показателей периферической крови определены ограничения для аутодонорства крови пациентов с сахарным диабетом с целью приготовления плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, для лечения диабетических язв кожи. Показано, что наличие системной воспалительной реакции, проявляющейся повышением содержания лейкоцитов более $9,0 \times 10^9/\text{л}$ и ускорением скорости оседания эритроцитов более 20 мм/час требует предварительного проведения антиинфекционной терапии у половины пациентов, которым показана местная терапия с использованием плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов.

Ключевые слова: диабетические язвы кожи; плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов; аутодонорство крови.

□ Оригинальные научные публикации

*M. P. Potapnev, G. G. Kondratenko, A. A. Troyanov,
D. M. Gordionok, S. I. Krivenko, E. A. Nazarova,
O. V. Levandovskaya*

BLOOD AUTODONATION POSSIBILITIES FOR PLATELET-RICH PLASMA PREPARATION TO TREAT DIABETIC FOOT ULCERS

The article presents the data on restrictions for autologous blood donation for platelet-rich plasma preparation to treat diabetic foot ulcers in patients with diabetes mellitus. It was shown that half of patients with diabetic foot ulcers had augmented content of leukocytes and reaction of erythrocyte sedimentation despite of normal content of hemoglobin concentration in peripheral blood in most patients. That was the main obstacles for blood donation to obtain platelet concentrate for platelet-rich plasma preparation in patients. This obstacle can be overwhelmed by antimicrobial therapy prior to blood autodonation of patients.

Key words: *diabetic foot ulcers, platelet-rich plasma, blood autodonation.*

Распространенность сахарного диабета (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 их ряды [1, 2]. Нарушения углеводного обмена у таких пациентов приводят к диабетическим ангиопатиям нижних конечностей, формированию синдрома диабетической стопы (СДС), который развиваются у 15% пациентов в течение жизни и наблюдаются у 6–20% госпитализированных пациентов. Продолжительность пребывания пациентов с диабетическими язвами стоп в стационаре превышает такую больных сахарным диабетом без язв на 59%. Образование хронических, медленно заживающих кожных язв и других воспалительно-некротических мягких тканей ног при СДС увеличивает риск развития гангрены нижних конечностей в 20 раз, на долю данной категории пациентов приходится 50–70% общего количества ампутаций нижних конечностей [3]. Тактика лечения кожных повреждений при СД определяется проведением системной терапии основного и сопутствующих заболеваний, а также выполнением комплекса местного лечения длительно незаживающих язв. В то же время их эффективность недостаточна [2–5].

Наше внимание привлекли клинические и экспериментальные исследования последних 10 лет, указывающие на эффективность применения естественных продуктов тромбоцитов для заживления ран. Они основываются на участии тромбоцитов в процессах гемостаза при повреждении кожных покровов, выделением ими антибактериальных факторов, цитокинов и хемокинов, регулирующих локальный иммунный ответ, а также ферментов и ростовых факторов, определяющих регенерацию и реэпителизацию поврежденных кожных покровов [6–8]. Стандартно используют аутологичные препараты, содержащие растворимые факторы тромбоцитов (РФТ). При этом используют

ручные и автоматизированные технологии их получения [6, 8, 9]. Нами в качестве базового рассматривается «плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов» (ПОРФТ), что соответствует platelet-rich plasma (PRP)/«плазме, обогащенной тромбоцитами» [10]. Ее получение от пациентов с СД в достаточном количестве предполагает аутодонорство цельной крови, регулируемое инструкцией, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь [11]. В то же время при СД, особенно при наличии осложнения – поражения кожи, наблюдаются изменения периферической крови, которые могут приводить к несоответствию критериям по заготовке аутологичной крови и её компонентов.

Целью исследования явилось выявление показателей гемограммы, ограничивающих возможность приготовления аутологичной ПОРФТ для местного лечения поражений кожи пациентов с СДС.

Материалы и методы

Сплошным методом за одинаковые промежутки времени исследованы гендерные характеристики и данные обследования 217 лиц обоего пола. В качестве контроля рассматривались результаты обследования здоровых лиц – доноров крови УЗ «9 городская клиническая больница г. Минска» и ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» (n = 115). Данные о пациентах с сахарным диабетом, имеющих СДС (n = 102) получены из городского центра «Диабетическая стопа» УЗ «10 городская клиническая больница г. Минска». В сравниваемых группах были оценены пол, возраст, результаты общего анализа крови, включая уровень гемоглобина, лейкоцитов и скорость оседания эритроцитов. Исследования проводили на гематологическом анализаторе CELL-DYN 3700. Скорость оседания эритроцитов определяли по Панченко.

Статистические методы обработки данных включали определения средних значений, для возраста пациентов – значения медианы, максимальные и минимальные значения, а также средние значения по-

казателей анализа крови. Проверку однородности выборок показателей групп пациентов проверяли с использованием критерия χ^2 Пирсона. Достоверность различий групп показателей оценивали с помощью Т-критерия. Достоверными считали различия при значении $p < 0,05$. При проведении статистической обработки материала использовали пакет программ STATISTICA 10.0

Результаты и обсуждение

Сравнительная характеристика показателей возраста пациентов с СДС и сравниваемой группы здоровых доноров крови показали следующее. Средний возраст здоровых женщин – доноров крови ($n = 23$) меньше, чем женщин-пациентов, страдающих СДС ($n = 32$), медиана возраста составила 40 лет (19–55 лет) против 57 лет (29–60 лет) соответственно. И если среди женщин с СДС доминировали лица в возрасте 50–60 лет (27/32; 84,4%), то среди здоровых женщин (доноров крови) их было существенно меньше (3/23; 13%; $p < 0,001$). Распределение по возрасту мужчин – доноров и мужчин – пациентов с СДС было аналогичным таковому у женщин. Средний возраст мужчин-доноров крови составлял 29,5 лет (18–59 лет) и был меньше, чем у мужчин-пациентов с СДС (55,5 лет (42–60 лет)). Доля мужчин в возрасте 50–60 лет среди доноров крови (5/92; 5,4%) также была существенно ниже, чем среди мужчин, имеющих СДС (59/70; 84,3%). Более старший возраст пациентов с СДС в нашей выборке связан с тем, что средняя длительность заболевания (сахарный диабет) у женщин – 22,5 года ($n = 32$), у мужчин – 19,5 года ($n = 70$).

Так как для получения ПОФРТ критическим является наличие достаточного количества тромбоцитов в периферической крови, мы сравнили его в сравниваемых группах. Как видно из таблицы 1, уровень тромбоцитов в группе женщин – доноров крови и пациентов с СДС практически не отличался (средние

Таблица 1. Содержание тромбоцитов в периферической крови пациентов с синдромом диабетической стопы и здоровых лиц

Критерий	Женщины	
	Пациенты с СДС ($n = 32$)	Доноры крови ($n = 23$)
Тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	269,6	278,7
Среднее значение		
в том числе:		
менее 150	2/32 (6,3%)	0/23 (0%)
150–200	5/32 (15,6%)	3/23 (13,0%)
более 200	25/32 (78,1%)	20/23 (87,0%)
Критерий	Мужчины	
	Пациенты с СДС ($n = 70$)	Доноры крови ($n = 92$)
Тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$)	243,2	257,4
Среднее значение		
в том числе:		
менее 150	6/70 (8,6%)	0/92 (0%)
150–200	17/70 (24,3%)	10/92 (10,9%)
более 200	47/70 (67,1%)	82/92 (89,1%)

значения составляли $278,7 \times 10^9/\text{л}$ и $269,6 \times 10^9/\text{л}$ соответственно).

Доля женщин с СДС, у которых содержание тромбоцитов в периферической крови превышает $200 \times 10^9/\text{л}$, составила 78,1%, а женщин-доноров крови – 87,0%. То есть при регламентированном минимальном уровне тромбоцитов для доноров крови $150 \times 10^9/\text{л}$ 100% женщин – доноров крови и 93,7% женщин – пациентов с СДС могут быть допущены к донорству крови [11]. Средний уровень тромбоцитов в периферической крови мужчин в сравниваемых группах не различался и составлял $257,4 \times 10^9/\text{л}$ в группе доноров крови и $243,2 \times 10^9/\text{л}$ в группе пациентов с СДС. Процент пациентов с СДС, у которых содержание тромбоцитов в периферической крови превышает $200 \times 10^9/\text{л}$, составил 67,1%, а мужчин-доноров – 89,1% ($\chi^2 = 11,85$; $p < 0,001$). Это позволило в качестве оптимального рекомендовать уровень тромбоцитов $200 \times 10^9/\text{л}$ и более для отбора пациентов с СДС (женщин и мужчин) для аутодонорства крови с целью получения ПОФРТ.

Одним из важных гематологических показателей, ограничивающих донорство крови, является уровень содержания гемоглобина и другие отклонения в анализе периферической крови [12]. Поэтому мы оценили важность этих показателей у пациентов с СДС как потенциальных аутодоноров. С учетом разных норм гемоглобина для женщин и мужчин мы провели сравнительный анализ гематологических показателей пациентов с СДС с учетом различий по полу. Как представлено в таблице 2, у пациентов с СДС величина средних показателей близки к нормальным показателям для допуска к донорству крови (125 г/л для женщин и 135 г/л для мужчин) [13]. При этом нижний порог гемоглобина для допуска к аутодонорству (110 г/л) превышают 81,2% женщин и 91,4% мужчин с СДС. Компенсированное состояние эритроидного ростка кроветворения у пациентов с сахарным диабетом подтверждено также показателем среднего значения эритроцитов в крови (мужчины – $4,59 \times 10^{12}/\text{л}$; женщины – $4,2 \times 10^{12}/\text{л}$) даже при наличии осложнения – диабетических язв кожи. Показатель содержания лейкоцитов в периферической крови выходил за рамки нормальных значений у пациентов с СДС: у женщин – в 40,6%, у мужчин – 45,7%. Это подтверждает наличие хронического инфицирования диабетических язв, что является основой для обязательной антибактериальной терапии СДС [4]. Следует отметить, что и СОЭ как показатель, свидетельствующий о наличии системного воспалительного процесса в организме пациентов, был в пределах требуемой нормы (20 мм/час) менее чем у половины пациентов с СДС (женщин и мужчин). Проведенный анализ позволил определить гематологические показатели, позволяющие провести отбор пациентов с СДС для получения аутологичной ПОФРТ. При этом наименее чувствительным оказались показатели красной крови (гемоглобин, эритроциты), лейкоциты и СОЭ.

Оригинальные научные публикации

Таблица 2. Гематологические показатели пациентов с синдромом диабетической стопы

Критерий	Пациенты с синдромом диабетической стопы	
	женщины (n = 32)	мужчины (n = 70)
Гемоглобин (г/л)		
среднее значение	122,4	136,3
менее 110	6/32 (18,8%)	6/70 (8,6%)
110–124	11/32 (34,4%)	
125 и более	15/32 (46,8%)	
110–134		22/70 (31,4%)
135 и более		42/70 (60%)
Эритроциты (10 ¹² /л)		
среднее значение	4,2	4,59
Лейкоциты (10 ⁹ /л)		
среднее значение	8,6	9,1
менее 4,0	1/32 (3,1%)	0/70 (0%)
4,0–9,0	19/32 (59,4%)	38/70 (54,3%)
более 9,0	12/32 (37,5%)	32/70 (45,7%)
СОЭ (мм/час)		
среднее значение	30,6	26,1
20 и менее	10/32 (31,25%)	32/70 (45,7%)
более 20	22/32 (68,75%)	38/70 (54,3%)

Именно отклонение лейкоцитов и СОЭ в гемограмме пациентов с СДС могут явиться препятствием для их включения в программу получения ПОРФТ для местной терапии диабетических язв. Это обосновывает проведение предварительной антибактериальной терапии и местной терапии с целью снижения микробной нагрузки на организм пациента [4] с последующим допуском к аутодонорству крови с целью получения ПОРФТ. Альтернативой такому подходу является использование аллогенной (донорской) крови для приготовления ПОРФТ с лечебной целью [14]. Такой подход может быть применен к пациентам с ограниченной двигательной активностью, старше 65 лет, с трудно корригируемыми отклонениями периферической крови, ограничивающими возможность аутодонорства крови, при наличии информированного согласия пациента на основании заключения врачебно-консультативной комиссии лечебного учреждения. При этом следует предусмотреть дополнительные меры обеспечения инфекционной безопасности аллогенного ПОРФТ (ПЦР-тестирование крови донора на инфекционные агенты, применение патогенредуцирующей обработки концентрата тромбоцитов, используемого для получения ПОФРТ, карантинное хранение на срок 3 месяца до последующей донации крови/ее компонентов донором).

Выводы

1. Для приготовления аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, необходим тщательный отбор пациентов, страдающих сахарным диабетом, осложненным синдромом диабетической стопы по критериям соответствия стандартам аутодонорства крови.

2. Наличие у 40,6–45,7% пациентов с синдромом диабетической стопы отклонений от нормы содержания лейкоцитов периферической крови и у 54,3–68,75% пациентов превышение нормального уровня СОЭ свидетельствует о необходимости предварительного обследования пациентов с СДС для получения аутологичной плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, и, при необходимости – проведения антибактериальной терапии.

Литература

1. Чур, Н. Н. Лечение больных с синдромом диабетической стопы / Здоровоохранение. – 1998. – № 3. – С. 8–11.
2. Игнатович, И. Н., Кондратенко Г. Г. Хирургия и ангиология диабетической стопы. – Минск: БГМУ, 2013.
3. Штильман, М. Ю. Современное комплексное хирургическое лечение гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы / дисс. докт. – Ростов-на-Дону, 2009.
4. Steed, D. L., Attinger Ch., Colaizzi T. et al. Guidelines for the treatment of diabetic ulcers // Wound Rep Reg. – 2006. – Vol. 14. – P. 680–692.
5. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 20.03.2013 г. № 348 «Об утверждении некоторых клинических протоколов».
6. 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. – Vol. 44. – P. 1013–1018.
7. Nurden, A. T., Nurden P., Sanchez M et al. Platelets and wound healing // Frontiers in Bioscience. – 2008. – Vol. 13. – P. 3525–3548.
8. Потапнев, М. П., Арабей А. А., Кондратенко Г. Г. и др. Растворимые факторы тромбоцитов и регенеративная медицина // Здоровоохранение. – 2014. – № 9. – С. 32–40.
9. Богдан, В. Г., Толстов Д. А., Зафранская М. М. и др. Тромбоцитарные концентраты: особенности биологических характеристики и структуры // Военная медицина. – 2015. – № 3. – С. 17–20.
10. 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. – Vol. 45. – P. 1759–1767.
11. Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 03.09.2012 г., № 981 «Об утверждении инструкции о порядке предоперационной заготовки аутологичной крови и ее компонентов».
12. Карпенко, Ф. Н., Потапнев М. П., Никанчик Т. А. и др. Оценка эффективности системы медицинского осмотра доноров цельной крови в стационарных и выездных условиях в Республике Беларусь // Вестник службы крови России. – 2014. – № 3. – С. 3–8.
13. Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 19 мая 2011 г. № 37 «Об установлении перечня заболеваний и состояний, при которых сдача крови и ее компонентов противопоказана, и утверждения Инструкции о порядке медицинского осмотра доноров крови и ее компонентов, Инструкции о порядке учета доноров крови и ее компонентов».
14. Greppi, N., Mazzucco L., Galetti G. et al. Treatment of recalcitrant ulcers with allogeneic platelet gel from pooled platelets in aged hypomobile patients. Biologicals. – 2011. – Vol. 39. – P. 73–80.

Поступила 22.12.2015 г.