

М.В. Свиридов

ІННОВАЦІЙНІ ПІДХОДИ ДО ЗАГОЄННЯ ОБШИРНИХ РАНОВИХ ДЕФЕКТІВ СТОП У ХІРУРГІЇ ПІЗНІХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ДІАБЕТИЧНОЇ СТОПИ

*Донецький національний медичний університет імені М. Горького
Донецький міський центр діабетичної стопи, Донецьк*

ВСТУП

Невпинне зростання захворюваності на цукровий діабет сьогодні набуло глобального характеру. Несприятливе тло і тяжкість ускладнень діабету призводять до розвитку інфікованих трофічних виразок, гнійно-некротичних процесів на стопі з переходом у гангрену, що тягне за собою ампутацію нижньої кінцівки [5, 8]. Незважаючи на існуючий широкий спектр засобів і методів як консервативного, так і хірургічного лікування трофічних ран у хворих на діабетичну стопу, жоден із них не позбавлений недоліків і не є абсолютно ефективним [3].

Велику кількість робіт присвячено вивченню на тлі діабету процесів, що відбуваються у хронічних ранах на клітинно-молекулярному рівні та перешкоджають загоєнню цих ран. Так, відомо, що контракцію ранового дефекту та утворення грануляційної тканини здебільшого обумовлено активністю фібробластів [7, 12], які впливають на загоєння та епітелізацію ран завдяки їх здатності продукувати колагени різних типів [1] та чинники росту [15]. Поряд із цим встановлено, що у хворих на цукровий діабет у ранах, які тривалий час не загоюються, проліферативна та метаболічна активність фібробластів значно знижується [13]. Внаслідок патологічної модифікації рецепторного апарату функціонуючі клітини стають нечутливими до впливу деяких чинників росту, таких як трансформуючий (TGF- β) [11] і чинник росту тромбоцитів (PDGF) [9, 10]. Отримані дані про біологічні процеси на клітинно-молекулярному рівні в ранах за цих умов дозволили розширити уявлення про патогенез трофічних виразок на стопах і запропонувати нові підходи до їх лікування [2, 4, 6, 14]. Так, для відновлення репаративних процесів можна привнести в рану ззовні активні чинники росту та фібробластний комплекс, одержані в процесі культивування. Отже, можна з певністю говорити про надзвичайну актуальність розробки нових технологій для

регуляції ранового процесу у ході комплексного хірургічного лікування хворих на діабетичну стопу. Метою роботи було поліпшення результатів хірургічного лікування хворих з ускладненими формами синдрому діабетичної стопи: зниження часу та поліпшення якості загоювання ран після операцій на стопі шляхом застосування запропонованого дермального еквівалента (ДЕ).

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Проаналізовано результати лікування гнійно-некротичних ускладнень синдрому діабетичної стопи у 112 хворих на цукровий діабет 2-го типу основної групи, яким проводилося комплексне хірургічне лікування ран із застосуванням ДЕ. Вік хворих — від 44 до 72 років. Контрольну групу склали 40 пацієнтів, яким проводили стандартне місцеве лікування післяопераційних ран із застосуванням гіпертонічного розчину, антисептиків, водорозчинних мазей і відомих лікарських стимуляторів загоєння. Спільно з ендокринологом і суміжними фахівцями проводили корекцію основного захворювання та супутньої патології.

Етіологію ранових дефектів з'ясовували за допомогою рентгенологічного, доплерівського дослідження артеріального кровотоку нижніх кінцівок, капіляроскопії, вивчення анамнезу та клінічних проявів хвороби. За показаннями у кожного пацієнта оцінювали можливість виконання судинної операції або розширеної хірургічної обробки для збереження опорної функції нижньої кінцівки. Консервативне лікування включало: компенсацію вуглеводного обміну, проведення нейропротективної, дезагрегантної та антибактеріальної терапії, купірування явищ критичної ішемії стопи, симптоматичну терапію з урахуванням супутніх захворювань, місцеве лікування гнійно-некротичного осередку з попереднім розтином гнійника та розширеною некректомією.

Досліджували ранову поверхню на бактеріологічне обсіменіння на одиницю площі за методикою, розробленою в Інституті хірургії ім. А.В. Вишневського. Аналіз цитологічних відбитків і планометрію ран виконували за загальноприйнятими методиками.

Швидкість загоєння ранового дефекту розраховували за формулою:

$$\Delta S = \frac{(S - S_i)}{S \cdot t} \cdot 100\%,$$

де ΔS — відносна швидкість загоєння рани (%), S — площа рани за першим вимірюванням, S_i — площа рани за другим вимірюванням, t — кількість днів між першим і другим вимірюваннями.

Роботи з культивування клітин і створення тканинного еквівалента дерми проводили в лабораторії клітинного і тканинного культивування Інституту невідкладної та відновної хірургії ім. В.К. Гусака АМН України (Донецьк). Дermalний еквівалент (ДЕ) є тривимірною структурою, що складається з аутофібробластів і гіалуронової кислоти, включених до колагенового гелю.

Процес отримання культури фібробластів

Для отримання культури аутофібробластів брали повношаровий шкірний біоптат площею в декілька квадратних сантиметрів. Біоптат подрібнювали на фрагменти, вносили на дно культурального флакона дермою донизу. Після адгезії фрагментів у культуральний флакон додавали 2-3 мл живильного середовища. Через 2-4 доби середовище замінювали. Після досягнення мігруючими з фрагментів фібробластами конфлуентного моношару здійснювали пасажування культури. Для трансплантації використовували клітини 2-го, 3-го та 4-го пасажів.

Культивуацію проводили у живильному середовищі Ігла (Інститут поліомієлітів і вірусних енцефалітів, Москва) із додаванням 10% ембріональної телячої сироватки ("Біолот", Санкт-Петербург). Пасажували сумішшю розчинів 0,25% трипсину (Інститут поліомієлітів і вірусних енцефалітів, Москва) і 0,06% розчином Версена (Інститут поліомієлітів і вірусних енцефалітів, Москва) у співвідношенні 1:5.

Приготування колагенового гелю

Колагеновий гель готували шляхом змішу-

вання оцтовокислого розчину колагену, що містив 2 мг білка на 1 мл, 0,34 N розчину NaOH, 7,5% розчину Na_2CO_3 , глутаміну, середовища Ігла, середовища 199x10 ("Біолот", Санкт-Петербург), 1 M розчину Hepes (ICN, США). Після цього до гелю додавали гіалуронову кислоту (ICN, США) у 0,2% концентрації відносно сухої речовини колагену в оцтовокислому розчині. Всі операції здійснювали на льодовій бані.

Приготування дермального еквівалента

До культурального флакона з конфлуентною культурою аутофібробластів заливали розчин трипсин-Версена, як і під час пасажування. Клітинну суспензію піпетували, підраховували життєздатні клітини, центрифугували зі швидкістю 800 об./хв. впродовж 6 хвилин, супернатант зливали, клітинний осад змішували з рештою компонентів гелю.

Після додання клітин гель заливали у шальки Петрі (діаметр 90 мм). На дно шальки попередньо вносили рівну за діаметром імпрегновану вазеліном марлю (Grassolind). Шальки Петрі з готовим еквівалентом ставили до інкубатора (37°C) на 30-40 хвилин для застигання.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

В основі стимулюючого ефекту ДЕ на процеси регенерації тканин лежить синтез клітинами еквівалента чинників росту, цитокінів і молекул позаклітинного матриксу, які включають у ділянці пошкодження "інтерактивну" взаємодію між трансплантатом і клітинами ранового ложа. Внаслідок подібної взаємодії клітини еквівалента синтезують широкий спектр регуляторних молекул, необхідний у конкретній ситуації, причому в необхідній кількості.

У комбінації з хірургічним лікуванням синдрому діабетичної стопи застосування ДЕ забезпечує підготовку ранового ложа до ранньої аутодермопластики, запобігає поширенню гнійно-некротичного процесу, прискорює очищення рани від деструктивних мас, стрімко переводить 1-у фазу перебігу ранового процесу в другу, довше триває стимуляція процесів регенерації та епітелізації ран. Таким чином зупиняється прогресування гнійно-некротичного процесу, зменшується кількість пересаджень шкіри, знижується ризик високих ампутацій нижніх кінцівок.

В усіх хворих основної групи під час першої

Стан ран пацієнтів контрольної та основної груп

Параметри	Контрольна (40)	Основна (112)
S грануляцій на 7-у добу (%)	35-45	100
Швидкість епітелізації (%)	1,2-2,3	4,2-4,4
Середній час епітелізації (доби)	36,3	22,5
Тип цитограми		
початковий	некротично-запальний	некротично-запальний
на 7-у добу	некротично-запальний	запально-регенеративний
на 14-у добу	запальний	запально-регенеративний
Бактеріологічне обсіменіння		
початкове	1986±167	1986±167
на 7-у добу	1634±154	1207±146
на 14-у добу	1602±148	1012±121
Кількість повторних реконструктивних операцій	3 (7,5%)	4 (3,6%)
Кількість високих ампутацій	1	0

перев'язки через 2-3 доби після трансплантації оцінювали стан рани — вона була тьмяна, але вочевидь зменшився перифокальний набряк, відзначалася крайова тракція, рана очищувалася. На момент другої перев'язки через 2 доби спостерігалася різка зміна стану рани — її дно почало виповнюватися добре дозрілою грануляційною тканиною, по периметру спостерігалася виражена крайова епітелізація. Цитограми відбитків ранової поверхні відповідали регенераторному типу ранового процесу. У подальшому швидкість епітелізації дорівнювала 5,1-4,4% за добу, на 11-у добу площа скорочувалася до 25% від початкової. Середній час від моменту трансплантації до цілковитого загоєння у 18 хворих із ранами площею менше від 6 см² склав 26 діб (від 18 до 35 діб). У 96 пацієнтів цієї групи з площею ранової поверхні понад 6-8 см² вирішувалося питання покриття ранового дефекту за допомогою пересадження шкіри. Їм виконано аутодермопластику переважно за Тіршем або вільним перфорованим лоскутом із 90% приживленням трансплантатів шкіри. З накопиченням спостережень аутодермопластику виконували, як правило, на 3-4-у добу після

трансплантації ДЕ з подальшим повним загоєнням рани.

У хворих контрольної групи репаративні процеси перебігали значно повільніше. Через 4 тижні від початку місцевого лікування відзначено зменшення розмірів ран щонайбільше на 40%. Швидкість загоєння ран у цій групі складала 1,0-1,3% на добу впродовж перших 3 тижнів, збільшуючись до 1,8-2,3% за добу надалі. У контрольній групі час повного закриття рани грануляційною тканиною значно варіював у різних пацієнтів (від 30 до 60 днів) і в середньому склав 1,5 місяця. Через низьку репаративну активність у рані, що призвела до хронізації ранового процесу та відновлення некротичних процесів, трьом хворим контрольної групи по закінченні 4 тижнів було виконано повторні реконструктивні операції та багатоетапну аутодермопластику з частковим приживленням шкірних лоскутів.

Високих ампутацій нижньої кінцівки в основній групі не було (у 3 пацієнтів ампутовано стопу за Саймом, в 1 — на рівні гомілки), а в контрольній групі виконано 1 ампутацію на рівні стегна, 2 — на рівні гомілки та 1 — за Саймом.

Слід зазначити, що застосування еквівалента дерми — це відносно проста процедура, що не вимагає спеціалізованих умов операційної та анестезіологічної допомоги і може бути виконана в умовах перев'язувальної. У цьому випадку скорочуються витрати лікарських препаратів, час загоєння ран і кількість ліжко-днів.

Отже, застосування культивованого ДЕ є новим перспективним напрямом у лікуванні ранових дефектів у хворих із синдромом діабетичної стопи і може з успіхом використовуватися для стимулювання загоєння застиглих ран і післяопераційних великих ранових дефектів, резистентних до традиційних методів лікування.

ВИСНОВКИ

1. Комплексне хірургічне лікування хворих із синдромом діабетичної стопи із застосуванням ДЕ на основі колагенового гелю та аутофіброblastів має явну перевагу над традиційними методами.
2. Використання ДЕ доступне й зручне для клінічного застосування за різних варіантів мезенхімальних дефектів. Значно підвищується репаративний потенціал рани, що дозволяє локально ввести активно проліферуючі клітини й елементи позаклітинного матриксу мезенхіми у рани будь-якої конфігурації та локалізації.
3. Цей підхід сприяє істотному загоєнню ранових дефектів стопи, якнайшвидшому очищенню ран, ліпшому приживленню шкірних аутотрансплантатів, зниженню кількості повторних операцій на стопі та зменшенню частоти високих ампутацій нижніх кінцівок.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гаврилюк Б.К., Рочев Ю.А., Николаева Т.И. Культура клеток и реконструкция ткани (на примере кожи). — Пущино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, — 1988. — 123 с.
2. Грищенко В.И., Прокопюк О.С., Юрченко Т.Н., Грищенко Н.Г. Фундаментальные и клинические аспекты клеточной терапии // Доктор. — 2004. — №4. — С.5-8.
3. Жан А. Роверда. Хирургическое лечение инфицированной диабетической стопы // Ангиология и сосудистая хирургия. — 2004. — Т.10, №1. — С. 116-121.
4. Клітинна і тканинна трансплантація — можливості, перспективи, невирішені проблеми і застереження // Мистецтво лікування. — 2004. — №2. — С. 4-6.
5. Ляпіс М.О., Герасимчук П.О. Синдром стопи діабетика. — Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. — 276 с.
6. Мишалов В.Г., Криворчук И.Г., Селюк В.М., Теслюк И.И. Клеточная и тканевая трансплантация в комплексном лечении больных с ИБС // Серце і судини. — 2004. — №1 (додаток). — С. 52-54.
7. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань: функциональная морфология и общая патология. — М. — 1981. — 312с.
8. Тронько Н.Д. Государственная комплексная программа "Сахарный диабет" // Доктор. — 2003. — №5. — С. 9-12.
9. Argen M.S., Steenfes H.H., Dabelsteen S. at al. Proliferation and mitogenic response to PDGF-BB of fibroblast isolated from chronic venous leg ulcers is ulcer-age-dependen // J. Invest. Dermatol. — 1999. — №112. — P. 463-469.
10. Bucalo B., Eaglstein W., Falanga V. Inhibition of cell proliferation by chronic wound fluid // Wound repair and regeneration. — 1993. — №1. — P. 181-186.
11. Hasan A., Murata H., Falabella A., Ochoa S. at al. Dermal fibroblast from venous ulcers are unresponsive to the action of transforming growth factor- β 1 // J. Dermatol. Sci. — 1997. №16. — P. 59-66.
12. Middelkoop E. Cell in wound management. In: Falanga V., Harding K. (ed.) The clinical relevance of wound bed preparation. — 2002. — P. 21-27.
13. Scalise A., Pierangeli M., Di Benedetto G., Sperti V., Bertani A. Cultured autologous fibroblast and keratinocyte grafts: applications in plastic surgery // Annals of Burns and Fire Disasters. — 2001. — Vol.XIV. — №2. — P. 87-90.
14. Wobus A.M. Potential of embryonic stem cells // Molecular Aspects of Medicine. — 2001. — Vol. 22. — P. 149-164.
15. Rubin J.S., Osada H., Finch P.W. at al. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1989. — №3. — P. 802-806.

РЕЗЮМЕ

Інноваційні підходи к заживленню обширных раневых дефектов стоп в хирургии поздних осложнений у больных с синдромом диабетической стопы

М.В. Свиридов

Проведен анализ хирургического лечения 112 пациентов с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы, в комплексном лечении которых был применен дермальный эквивалент с аутофибробластами. Контрольную группу составили 40 пациентов, леченных традиционными способами. Использование клеточно-тканевой терапии в заживлении трофических язв и раневого дефекта позволило выполнить раннюю аутодермопластику с 90% приживляемостью аутотрансплантата кожи у 96 больных основной группы и добиться в 96,4% наблюдений заживления раневого дефекта в течение 25 дней, в отличие от 2-3-месячного заживления ран у больных контрольной группы.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, клеточно-тканевая терапия.

SUMMARY

Innovative approaches to healing of vast wound feet defects in late complications surgery in patients with diabetic foot syndrome

M. Sviridov

The analysis of surgical treatment of 112 patients with the purulent-necrotic forms of diabetic foot syndrome in complex treatment which one has applied an skin equivalent with autofibroblasts, was carried out. 40 patients have compounded controls, which one we treated by traditional ways. The use of cellular-tissue therapy in a healing of trophic ulcers and of a wound defect has allowed to execute early autodermoplasty from 90% of healing of an skin autotransplantat for 96 patients of a basic group and to achieve 96,4% of healing of a wound defect during 25 days. The healing of wounds for patients of control group lasted during 2-3 months.

Key words: diabetic foot syndrome, cellular-tissue therapy.

Дата надходження до редакції 12.08.2008 р.