

Научная статья

УДК 616.379-008.64: 617-089.844

DOI: 10.17816/pmj395125-131

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

С.Н. Стяжкина¹*, Э.Д. Байрамкулов², Н.А. Кирьянов¹, Э.Р. Шарифуллина¹, А.А. Жарова¹

¹Ижевская государственная медицинская академия,

²Ставропольская краевая клиническая больница, Россия

EVALUATION OF TREATMENT EFFICIENCY OF DIABETIC FOOT SYNDROME USING IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDIES

S.N. Styazhkina¹*, E.D. Bairamkulov², N.A. Kiryanov¹, E.R. Sharifullina¹, A.A. Zharova¹

¹Izhevsk State Medical Academy,

²Stavropol Regional Clinical Hospital, Russian Federation

Цель. Оценить результаты комплексного консервативного лечения пациентов с синдромом диабетической стопы с применением иммуногистохимических методов исследования биоптатов тканей пораженных участков стопы.

Материалы и методы. Проведено обследование и лечение 129 пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа в возрасте от 16 до 80 лет, у которых течение заболевания осложнилось развитием синдрома диабетической стопы (СДС). В основную группу (1-я) вошли 89 больных, комплексное консервативное лечение которых было дополнено введением препаратов мексидол и ронколейкин. Мексидол применяли внутривенно по 10 мл 10 дней, а потом переходили на таблетированные препараты в дозе 125 мг. Ронколейкин вводили внутривенно по 1,0–0,500 ед.: в 1-е сутки после поступления боль-

© Стяжкина С.Н., Байрамкулов Э.Д., Кирьянов Н.А., Шарифуллина Э.Р., Жарова А.А., 2022

тел. +7 950 820 51 10

e-mail: sstazhkina064@gmail.com

[Стяжкина С.Н. (*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской хирургии, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5787-8269>; Байрамкулов Э.Д. – аспирант кафедры факультетской хирургии, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5389-4132>; Кирьянов Н.А. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6944-2083>; Шарифуллина Э.Р. – студентка IV курса лечебного факультета, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5096-0243>; Жарова А.А. – студентка IV курса лечебного факультета, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5548-2985>].

© Styazhkina S.N., Bairamkulov E.D., Kiryanov N.A., Sharifullina E.R., Zharova A.A., 2022

tel. +7 950 820 51 10

e-mail: sstazhkina064@gmail.com

[Styazhkina S.N. (*contact person) – MD, PhD, Professor, Department of Faculty Surgery, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5787-8269>; Bayramkulov E.D. – postgraduate student, Department of Faculty Surgery, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5389-4132>; Kiryanov N.A. – MD, PhD, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6944-2083>; Sharifullina E.R. – forth-year student, Faculty of Medicine, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5096-0243>; Zharova A.A. – forth-year student, Faculty of Medicine, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5548-2985>].

ного в стационар в качестве предоперационной подготовки; после операции – на 3-и сутки. В группу сравнения (2-я) вошли 40 человек. Они получали стандартное консервативное лечение СДС, которое включало сахароснижающие, гипотензивные и гиполипидемические препараты, а также местное лечение сорбционными повязками.

Перед лечением и через две недели у пациентов были взяты биоптаты тканей пораженных участков стопы. Для морфологического изучения биоптатов использовали гистохимические методы: окраски толуидиновым синим по Маллори в модификации Гейденгайна, ШИК-реакцию. Подсчитывали количество лейкоцитов, лимфоцитов, индекс пролиферации протеина Ki-67, экспрессию протеина P53.

Результаты. При морфологическом исследовании до начала лечения воспаление носило выраженный характер во всех биоптатах. Края язвенного дефекта были инфильтрированы полиморфноядерными лейкоцитами. Количество нейтрофилов составило 75 %, лимфоцитов 25 %. При иммуногистохимическом анализе индекс пролиферации протеина Ki-67 составил 2 %, экспрессия протеина P53 – 2,9 %.

Лечение группы контроля (2-я) стандартным методом приводило к полному очищению трофической язвы от некротических масс на 21-е сутки. В инфильтрате преобладали лимфоциты (70 %), количество нейтрофилов уменьшилось до 30 %. При иммуногистохимическом исследовании экспрессия биомаркера Ki-67 увеличилась до 7 %, экспрессия биомаркера P53 – 5 %. Комбинированное лечение СДС с применением мексидола и ронколейкина (1-я группа) продемонстрировало максимальный восстановительный эффект уже на 6–14-е сутки. В инфильтрате количество лимфоцитов составляло 85 %, нейтрофильных лейкоцитов уменьшилось до 15 %, пролиферативный индекс биомаркера Ki-67 вырос до 15 %, экспрессия биомаркера P53 до 5,9 %.

Выводы. Применение иммуногистохимических методов исследования биоптатов язв при лечении СДС дает возможность достоверно оценить динамику раневого процесса. Использование в комплексном лечении оригинальных препаратов ронколейкина и мексидола способствует более быстрому уменьшению воспалительного процесса и очищению ран при СДС, что подтверждается увеличением индексов пролиферации Ki и апоптоза P53.

Ключевые слова. Синдром диабетической стопы, трофические язвы, иммуногистохимические методы, ронколейкин, мексидол.

Objective. To evaluate the results of complex conservative treatment of patients with diabetic foot syndrome using immunohistochemical methods of studying tissue bioplates of the affected foot regions.

Materials and methods. Examination and treatment of 129 patients (aged 16 to 80 years) with 1 and 2 type diabetes mellitus, whose course of the disease was complicate by the development of diabetic foot syndrome (DFS) was carried out. The main group (group 1) included 89 patients, who underwent complex conservative treatment added by the preparations mexidol and roncoleukin. Mexidol was used intravenously 10 ml for 10 days, and then tableted drugs in the dose of 125 ml. Roncoleukin was administered intravenously in the dose of 1.0–0.500 units: the 1st day after admission to hospital – as a preoperative preparation; after the surgery – on the 3rd day. The comparison group (group 2) enclosed 40 persons. They received a standard conservative treatment of DFS including sugar-containing, hypotensive and hypolipidemic drugs as well as a local therapy using sorption bandages. Before treatment and two weeks after, the tissue bioplates of the affected regions were taken from patients. For morphological study of bioplates, histochemical methods were applied: Mallory's toluidine blue staining in Heidenhain modification, PAS reaction. The number of leukocytes, lymphocytes, Ki-67 protein proliferation index, P53 protein expression were calculated.

Results. The morphological study before the onset of treatment showed that the inflammation had a marked character in all the bioplates. The margins of the ulcerous defect were infiltrated with polymorphonuclear leukocytes. The number of neutrophils was 75 %, lymphocytes – 25 %. The results of immunohistochemical analysis were the following: Ki-67 protein proliferation index was 2 %, P53 protein expression – 2.9 %. Treatment of the control group (group 2) with the standard method resulted in a complete purification of the trophic ulcer from necrotic mass on the day 21st. In the infiltrate, there prevailed lymphocytes (70 %), the number of neutrophils decreased to 30 %. The result of immunohistochemical study was an increase in Ki-67 biomarker expression up to 7 %, P53 biomarker expression – 5 %. Combined treatment of DFS applying mexidol

and roncoleukin (group 1) demonstrated a maximum restorative effect already on the 6–14 day. In the infiltrate, the number of lymphocytes was 85 %, neutrophile leukocytes fell to 15 %, Ki-67 biomarker proliferation index grew to 15 %, P53 biomarker expression – to 5.9 %.

Conclusions. The use of immunohistochemical methods of research of ulcer bioplates in treatment of DFS makes it possible to reliably evaluate the dynamics of wound process. The application of original preparations roncoleukin and mexidol in complex treatment contributes to a faster reduction of inflammatory process and purification of wounds that is confirmed by an increase in Ki proliferation index and P53 apoptosis.

Keywords. Diabetic foot syndrome, trophic ulcers, immunohistochemical methods, roncoleukin, mexidol.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) – это метаболическое заболевание, характеризующееся хронической гипергликемией, возникающей в результате дефектов секреции инсулина и/или действия инсулина, что приводит к серьезному повреждению внутренних органов и тканей [1]. Согласно официальным данным Всемирной организации здравоохранения, число людей, страдающих СД, возросло со 108 млн в 1980 г. до 422 млн в 2014 г. К 2035 г., по данным, предоставленным Международной федерацией диабета, количество больных диабетом в мире вырастет до 592 млн человек, это составляет примерно одну десятую населения мира [2].

Длительное течение СД приводит к развитию осложнений. Почти у 6–10 % пациентов формируется синдром диабетической стопы (СДС), который характеризуется развитием язв, инфекций на фоне нейропатии и ишемии конечности. Больные СД с гнойно-некротическими осложнениями нижних конечностей относятся к особой категории: язвы, и дефекты мягких тканей стопы заживают длительно, что снижает качество жизни, а также приводит к необходимости ампутаций конечности. Количество пациентов, погибших в первые годы после высокой ампутации нижней конечности, достигает 59 % от всех оперированных пациентов. Учитывая, что количество паци-

ентов с сахарным диабетом увеличивается с каждым годом, дальнейшее изучение различных вариантов местного лечения синдрома диабетической стопы, мониторинга гнойного процесса в ране с использованием современных методик остается актуальной задачей [3, 4].

Цель исследования – оценить результаты комплексного консервативного лечения пациентов с синдромом диабетической стопы с применением иммуногистохимических методов исследования биоптатов тканей пораженных участков стопы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на базе отделений гнойной хирургии Ставропольской краевой клинической больницы и Республиканской клинической больницы г. Ижевска. Проведено обследование и лечение 129 пациентов с сахарным диабетом 1-го и 2-го типа в возрасте от 16 до 80 лет, у которых течение заболевания осложнилось развитием СДС. Женщин – 60 (46,3 %), мужчин – 69 (53,7 %). В основную группу (1-я) вошли 89 больных СДС, комплексное консервативное лечение которых было дополнено препаратами мексидол и ронколейкин. В группу сравнения (2-я) вошли 40 человек. Они получали стандартное консервативное лечение СДС, которое включало сахароснижающие, гипотензивные и гиполипидемические пре-

параты, а также местное лечение сорбционными повязками.

Из 89 пациентов основной группы у 68 (76 %) диагностирована нейропатическая форма, у 16 (18 %) – нейроишемическая и у 5 (6 %) – ишемическая. В группе сравнения из 40 больных нейропатическая форма обнаружена у 27 (68 %), нейроишемическая – у 19 (22 %), ишемическая – у 4 (10 %). Основные клинические проявления СДС характеризовались наличием гнойно-некротического поражения подошвенной поверхности стопы и области плюсневых костей (70 %), значительно реже – тыльной стороны стопы (13,5 %). Язвенные дефекты на стопе относились к 1-й или 2-й степени тяжести по классификации WIFI.

Обследование пациентов включало общий анализ крови с подсчетом лейкоцитарного индекса интоксикации, биохимический и общий анализ крови, ультразвуковую доплерографию сосудов нижних конечностей.

Всем пациентам проведено комплексное лечение. Дополнительно больным первой группы назначали ронколейкин и мексидол. Мексидол вводили внутривенно по 10 мл 10 дней, а потом переходили на таблетированные препараты в дозе 125 мг. Ронколейкин вводили внутривенно по 1,0–500 ед.: в 1; 5-е и 7-е сут в программе комплексного лечения.

Перед лечением и через две недели у пациентов были взяты биоптаты тканей пораженных участков стопы. Для морфологического изучения биоптатов использовали гистохимические методы: окраски толuidиновым синим по Маллори в модификации Гейденгайна, ШИК-реакцию. В биоптате подсчитывали количество лейкоцитов, лимфоцитов, определяли индекс пролиферации протеина Ki-67, экспрессию протеина P53.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

До начала лечения у пациентов обеих групп обнаружена умеренная анемия. Уровень гемоглобина крови в среднем составил $90,4 \pm 2,39$ г/л. У большинства больных при поступлении наблюдался лейкоцитоз – $(13,37 \pm 6,46) \cdot 10^9/\text{л}$ и повышение СОЭ – $67,4 \pm 8,52$ мм/ч.

В первой группе после проведенного лечения уровень гемоглобина увеличился на 13,8 %, содержание лейкоцитов уменьшилось на 24,21 % и уровень СОЭ снизился на 43,82 %. Во второй группе к концу стандартного лечения содержание гемоглобина увеличилось на 7 %. Зарегистрировано снижение уровня лейкоцитов на 23,71 %, СОЭ – на 17,95 %, но полной нормализации этих показателей не произошло.

При морфологическом исследовании до начала лечения воспаление носило выраженный характер во всех биоптатах. Края язвенного дефекта были инфильтрированы полиморфноядерными лейкоцитами. Количество нейтрофилов составило 75 %, лимфоцитов 25 %. Также обнаруживали сосудистые нарушения, дистрофические изменения тканей и отек. При иммуногистохимическом анализе индекс пролиферации протеина Ki-67 составил 2 %, экспрессия протеина P53 – 2,9 %.

Лечение группы контроля (2-я) стандартным методом приводило к полному очищению трофической язвы от некротических масс на 21-е сутки, дно заполнялось грануляционной тканью. Поверхностный слой был представлен юной соединительной тканью, под ней определялся слой созревающей грануляционной ткани. В инфильтрате преобладали лимфоциты (70 %), количество нейтрофилов уменьшилось до 30 % (рис. 1).

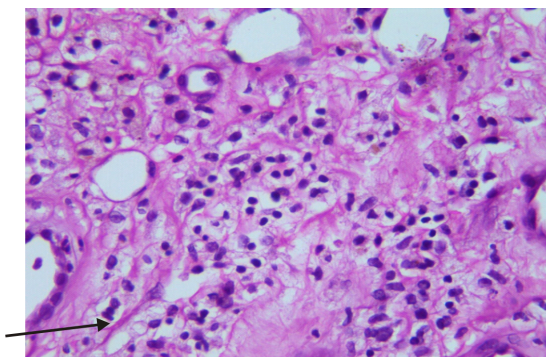


Рис. 1. Лимфоцитарные инфильтраты в дерме (на 21-е сутки), контрольная группа. Метод исследования – иммуногистохимический. Окраска по Романовскому – Гимзе, увеличение $\times 200$. Наблюдается пролиферация стволовых клеток. На поверхности соединительной ткани 5–6 рядов камбиальных клеток

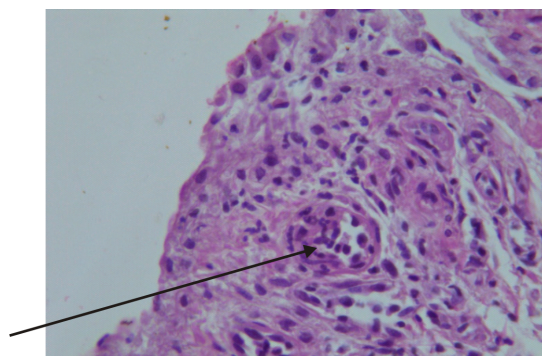


Рис. 2. Очищение поверхности язвы (на 6–14-е сутки), основная группа. Метод исследования – иммуногистохимический. Окраска по Романовскому – Гимзе, увеличение $\times 200$. На 7-е сутки лечения препаратами мексидола и ронколейкина наблюдается очищение поверхности язвы

При иммуногистохимическом исследовании грануляционной ткани экспрессия биомаркера Ki-67 составила 7 %, экспрессия биомаркера P53 – 5 %.

Комбинированное лечение СДС с применением мексидола и ронколейкина (1-я группа) продемонстрировало максимальный восстановительный эффект уже на

6–14-е сутки. К этим срокам снижались проявления сосудистых реакций, уменьшался отек окружающих тканей, усиливались процессы регенерации. Количество нейтрофилов и лимфоцитов служит маркером любого воспалительного процесса, в том числе и при СДС [5, 6]. В инфильтрате количество лимфоцитов составляло 85 %, нейтрофильных лейкоцитов уменьшилось до 15 % (рис. 2).

Показателем усиления репаративных процессов в трофической язве служили результаты гистохимического исследования с иммунным анализом: пролиферативный индекс биомаркера Ki-67 вырос до 15 %, экспрессия биомаркера P53 – до 5,9 %, аналогичные данные были получены в исследованиях других авторов [7, 8].

Иммуногистохимические методы исследования воспалительного процесса любой этиологии позволяют оценить динамику очищения и заживления раны. Применение в комплексном лечении оригинального иммунного препарата ронколейкина и антигипоксанта мексидола позволило добиться очищения трофических язв и гнойных ран в более короткие сроки и избежать ампутации, что значительно улучшило качество жизни пациентов.

Ронколейкин применяют в комплексном лечении гнойно-некротических осложнений СДС у больных сахарным диабетом с 1996 г. Впервые препарат был применен М.В. Егоренковым в лечении 167 больных в период 1996 по 2000 г. в 1-м Военно-морском клиническом госпитале и в Центре по лечению хирургической инфекции Санкт-Петербурга. Проведенная работа на основе применения иммуногистохимического исследования биоптатов тканей стопы подтвердила эффективность использования ронколейкина и мексидола в очищении гнойных ран при СДС по сравнению с традиционным консервативным лечением.

ВЫВОДЫ

1. Применение иммуногистохимических методов исследования биоптатов язв при лечении СДС дает возможность достоверно оценить динамику раневого процесса.

2. Использование в комплексном консервативном лечении ронколейкина и мексидола способствует более быстрому уменьшению воспалительного процесса и очищению ран при СДС, что подтверждается увеличением индексов пролиферации Ki и апоптоза P53.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Асатурова А.В. Изоформы белка p53: роль в норме и патологии, особенности выявления и клиническое значение. Успехи современного естествознания 2015; 3: 3–12.

2. Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Гриценко В.А. Синдром диабетической стопы: этиология, патогенез, классификации и лечение. Человек и его здоровье 2016; 1: 33–40.

3. Галстян Г.Р., Токмакова А.Ю., Егорова Д.Н. Клинические рекомендации по диагностике и лечению синдрома диабетической стопы. Раны и раневая инфекция 2015; 3: 60–81.

4. Гомыдова И.И., Бигеева А.Н. Диабетическая стопа. Описание клинического случая. Молодой ученый 2019; 20: 167–169.

5. Заривчацкий М.Ф., Лукин П.С., Виноградов А.Б. Цитологическое исследование динамики раневого процесса при синдроме диабетической стопы. Пермский медицинский журнал 2017; 3: 3–18.

6. Заривчацкий М.Ф., Лукин П.С., Смирнова Е.Н., Кравцова Т.Ю., Блинов С.А. Особенности диагностики и лечения хирургических заболеваний на фоне сахарно-

го диабета: учебное пособие. Пермь 2021; 164–169.

7. Есипов В.К., Белозерцева Ю.П., Курлаев П.П., Гриценко В.А. Опыт лечения гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы с применением оригинальной хирургической методики. Креативная хирургия и онкология 2014; 3: 61–68.

8. Забудская К.Н. Маркер бесконечности Ki-67. MEDACH 2019; 1: 1–8.

REFERENCES

1. Asaturova A.V. Isoforms of p53 protein: role in norm and pathology, features of detection and clinical significance. *Successes of Modern Natural Science* 2015; 3: 3–12.

2. Belozertseva Yu.P., Kurlaev P.P., Gritsenko V.A. Diabetic foot syndrome: etiology, pathogenesis, classification and treatment. *Man and his health* 2016; 1: 33–40.

3. Galstyan G.R., Tokmakova A.Yu., Egorova D.N. Clinical recommendations for the diagnosis and treatment of diabetic foot syndrome. *Rany i ranevaya infektsiya* 2015; 3: 60–81.

4. Gomydova I.I., Bigeeva A.N. Diabetic foot. Description of the clinical case. *Young scientist* 2019; 20: 167–169.

5. Zarivchatskiy M.F., Lukin P.S., Vиноградов A.B. Cytological study of the dynamics of the wound process in diabetic foot syndrome. *Perm Medical Journal* 2017; 3: 3–18.

6. Zarivchatskiy M.F., Lukin P.S., Smirnova E.N., Kravtsova T.Yu., Blinov S.A. Features of diagnosis and treatment of surgical diseases on the background of diabetes mellitus: study guide. *Perm* 2021; 3: 164–169.

7. Esipov V.K., Belozertseva Yu.P., Kurlaev P.P., Gritsenko V.A. Experience in the treatment of purulent-necrotic complications of diabetic foot syndrome using an original

surgical technique. *Creative Surgery and Oncology* 2014; 3: 61–68.

8. *Zabudskaya K.N.* Infinity marker Ki-67. *MEDACH* 2019; 1: 1–7.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 04.07.2022

Одобрена: 08.08.2022

Принята к публикации: 01.09.2022

Просьба ссылаться на эту статью в русскоязычных источниках следующим образом: Оценка эффективности лечения синдрома диабетической стопы с применением иммуногистохимических исследований / С.Н. Стяжкина, Э.Д. Байрамкулов, Н.А. Кирьянов, Э.Р. Шарифуллина, А.А. Жарова // Пермский медицинский журнал. – 2022. – Т. 39, № 5. – С. 125–131. DOI: 10.17816/pmj395125-131

Please cite this article in English as: Styazhkina S.N., Bairamkulov E.D., Kiryanov N.A., Sharifullina E.R., Zharova A.A. Evaluation of treatment efficiency of diabetic foot syndrome using immunohistochemical studies. *Perm Medical Journal*, 2022, vol. 39, no. 5, pp. 125-131. DOI: 10.17816/pmj395125-131