Эффективность коллагенсодержащих повязок в комплексной терапии хронических раневых дефектов у больных сахарным диабетом

Г.Ю. Страхова, М.И. Арбузова, А.Ю. Токмакова

ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий, Москва

Трофическая язва – часто встречающееся и специфичное для диабета поражение, регистрирующееся, по мнению различных авторов, у 4–15% пациентов [1]. Ее определяют как эрозию кожи, распространяющуюся не только на эпидермис и дерму, но и проникающую в более глубоко расположенные ткани и характеризующуюся замедленной эпителизацией [2].

Для того чтобы выбрать адекватную тактику лечения трофических язв у больных сахарным диабетом (СД) необходимо правильно оценить особенности течения раневого процесса в данной группе пациентов.

Хронические или незаживающие раны (трофические язвы) характеризуются дефектным ремоделированием экстрацеллюлярного матрикса, нарушением реэпителизации и длительной воспалительной фазой. Гиперпролиферация эпидермиса в краях раны препятствует нормальной миграции клеток по поверхности раневого ложа, вероятно вследствие ингибирования апоптоза в клеточной популяции фибробластов и кератиноцитов [3]. Более высокая концентрация матриксных металлопротеиназ (ММП) в хронической раневой жидкости вызывает постоянный оборот ткани, ведя к расщеплению или распаду межклеточного вещества, необходимого для реэпителизации и, следовательно, невозможности закрытия раны. Кроме того, протеазы могут разрушать факторы роста и цитокины, необходимые для заживления [4].

ММП относятся к семейству Zn-зависимых эндопептидаз, которые обеспечивают деградацию белковых компонентов межклеточного матрикса и базальных мембран. На основании данных о первичной структуре, субстратной специфичности и клеточной локализации эти ферменты делят на 4 основных подсемейства: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, мембраносвязанные ММП. К подсемейству желатиназ относят желатиназу А (ММП-2) и желатиназу В (ММП-9). Они способны расщеплять коллаген IV и V типов, эластин, входящий в состав базальных мембран, и денатурированный коллаген, что дает ММП-2 и ММП-9 способность участвовать в деградации фибриллярных коллагенов совместно с коллагеназами [5]. Желатиназы также способны гидролизовать коллагены других типов и ряд белков соединительно-тканного матрикса [6].

Большинство данных о свойствах ММП получены либо в условиях эксперимента, либо с использованием рекомбинантных ферментов и их ингибиторов [7, 8, 9]. Результатов клинических исследований роли ММП в процессе заживления хронических ран крайне мало, что определяется не в последнюю очередь трудностями в получении материала для изучения. В то же время подобные сведения были бы необычайно важны, так как они могут помочь в оценке репаративных процессов и в прогнозировании эпителизации дефектов.

Проблема местного лечения раневых дефектов широко обсуждается различными специалистами, работающими в этой области. Ежегодно появляются новые средства закрытия ран, воздействующие на различные патогенетические механизмы раневого процесса. Одним из современных препаратов для местного лечения трофических язв является Промогран (Johnson & Johnson, США). В состав повязки входит специально обработанный бычий коллаген и окисленная восстановленная целлюлоза. Механизм действия повязки основан на способности входящего в ее состав бычьего коллагена конкурировать с собственным коллагеном раны во взаимодействии с протеолитическими ферментами. В частности, на экспериментальных моделях была показана способность компонентов Промограна связывать ММП в растворе [10]. Инкубация Промограна с экссудатом трофических язв больных диабетом дала аналогичный результат. Механизм этой реакции пока до конца не изучен, предполагается, что имеет место нековалентное взаимодействие.

В основном эффекты Промограна изучали на экссудатах раневых дефектов различного генеза [10]. В рамках данной работы была проанализирована эффективность использования Промограна в лечении больных с нейропатической формой синдрома диабетической стопы, влияние препарата на активность ММП непосредственно в тканях раневого дефекта и сыворотке крови.

Таблица 1

Клиническая характеристика групп пациентов

Параметры	Промогран (n_1=10)	Контроль (n_2=10)
Возраст (M±m), лет	37,4±1,3	40,3±0,7
М/Ж	4/6	5/5
Длительность СД (M±m), лет	14,7±1,1	15,6±1,2
Длительность существования язвы (M±m), мес	12,4±0,6	9,7±0,7
HвA1c (M±m),%	8,6±1,6	9,0±0,8
Диабетическая ретинопатия:		
- непролиферативная, %	20	30
- препролиферативная, %	70	60
- пролиферативная, %	10	10
Диабетическая нефропатия:		
- стадия микроальбуминурии, %	10	0
- стадия протеинурии, %	80	80
- ХПН, %	10	20

Таблица 2

Результаты оценки раневых дефектов обследованных пациентов

Параметры	Промогран (n_1=10)	Контроль (n_2=10)
Площадь раневого дефекта (M±m), см^2	6,7±1,3	5,8±1,4
Глубина раневого дефекта (по Wagner):		
I ст.	0	0
II ст.	6	7
III ст.	4	3

Объект и методы исследования

Обследовано 20 пациентов с СД 1 и 2 типа. Основную группу составили 10 пациентов с нейропатической формой синдрома диабетической стопы (СДС) и длительно незаживающими раневыми дефектами плантарной поверхности, в комплексную терапию которых был включен Промогран. В контрольную группу вошли 10 больных с аналогичными осложнениями, лечение которых проводили по стандартной методике (контроль СД, разгрузка конечности, антибактериальная терапия, местное лечение раневого дефекта с использованием атравматичных повязок).

В качестве контрольных показателей оценивали скорость заживления раны, уровень ММП-2, ММП-9 и коллагенолитической активности (КА) биоптатов тканей раневых дефектов и сыворотки крови. Материал брали при первом визите пациента и через 3 нед лечения. КА в гомогенатах ткани и сыворотке крови определяли фотометрическим методом. Количество общей ММП-2 и ММП-9 определяли иммуноферментным методом наборами фирмы «R&D Systems» (США) согласно инструкциям производителя.

Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Как видно из приведенных данных, группы были сопоставимы по полу, возрасту, стажу заболевания и компенсации СД, длительности течения раневого процесса. Все включенные в исследование пациенты имели выраженные микрососудистые осложнения.

Клиническая форма СДС была верифицирована на основании результатов исследования периферической иннервации (определение тактильной, температурной, вибрационной чувствительности) и оценки состояния магистрального кровотока по артериям голени и стопы методом ультразвуковой допплерографии и допплерометрии.

При оценке глубины и площади раневых дефектов были получены результаты, приведенные в табл. 2.

Раневые дефекты всех обследованных имели типичную для нейропатической формы СДС локализацию, глубина их не превышала III ст. по классификации Wagner.

Пациентам основной группы Промогран накладывали на раневые дефекты с первого дня терапии. Перед наложением новой повязки дефект очищали от некротических масс и экссудата с помощью хирургического инструмента и промывали физиологическим раствором при температуре 37°С. Вторичной повязкой служила стерильная марлевая салфетка. Смену повязки проводили 1 раз в два дня.

Пациентам контрольной группы обработку раневых дефектов проводили по аналогичной методике. На рану накладывали нейтральную атравматическую повязку, а поверх нее – стерильную марлевую салфетку. Разгрузку пораженной зоны у пациентов обеих групп достигали с помощью индивидуальной разгрузочной повязки (Total Contact Cast). Измерение параметров раневого дефекта проводили 1 раз в неделю.

Таблица 3

КА, ММП-2 и ММП-9 сыворотки крови и клеточного гомогената больных основной и контрольной групп (M±σ)

Группы	КА		ММП-2		ММП-9	
	Клеточный гомогенат (нг/мг)	Сыворотка крови (нг/мл)	Клеточный гомогенат (нг/мг)	Сыворотка крови (нг/мл)	Клеточный гомогенат (нг/мг)	Сыворотка крови (нг/мл)
Промогран	48,5±17,3	272,1±12,3	770±317,5	761,3±102,4	23,5±20,9	106,4±54,1
Контроль	50,1±12,5	288,5±19,5	754±290,1	750,1±283,7	22,9±19,6	105,5±63,5

p>0,05

Таблица 4

Результаты оценки раневых дефектов у обследованных пациентов после проведенной терапии		
Параметры	Промогран (n_1=10)	Контроль (n_2=10)
Площадь дефекта до лечения (M±m), см^2	6,7±1,3	5,8±1,4
Площадь дефекта после лечения (M±m), см^2	3,6±0,7*	4,9±1,3

*p<0,001.

Результаты и обсуждение

Анализ результатов исследования КА, ММП-2 и ММП-9 в сыворотке крови и клеточном гомогенате, полученных у пациентов основной и контрольной групп до начала лечения, обнаружил их сопоставимость, что представлено в табл. 3.

Контрольное исследование состояния ран и биохимических параметров течения хронического раневого процесса было проведено спустя 3 нед от начала лечения.

Динамика площади и глубины дефектов представлена в табл. 4.

Отмечено, что на фоне лечения Промограном произошло достоверное уменьшение площади раневых дефектов у пациентов основной группы (p<0,001). У лиц контрольной группы на фоне стандартной терапии площадь дефектов также сократилась, но это изменение не было достоверным. Внешний вид раневых дефектов до и после лечения представлен на рис. 1–3.

Исследование контролируемых параметров через 3 нед лечения показало достоверное снижение КА и ММП-2 в сыворотке крови больных основной группы (p<0,05), а также достоверное снижение ММП-2 в клеточном гомогенате больных основной группы (p<0,05) (табл. 5).

Динамика показателей КА, ММП-2 и ММП-9 в клеточном гомогенате и сыворотке крови пациентов, получавших терапию Промограном, представлена на рис. 4–6.

Изменение показателей КА в клеточных гомогенатах было более выраженным в группе больных, получавших лечение Промограном, но в обеих группах оно не было достоверным.

Изучение матриксных металлопротеиназ началось около десятилетия назад и на первых этапах проводилось на экспериментальных моделях и клеточных культурах [11, 12]. Было доказано, что ММП проявляют свою активность на всех стадиях раневого процесса, начиная от экссудации и заканчивая формированием рубцовой ткани [13]. Протеазы участвуют во всех процессах, поддерживая баланс между синтезом и деградацией белковых структур, нарушение которого ведет к хронизации раневого процесса [8, 14]. Повышение протеолитической активности ведет к генерализации тканевой деструкции и хронизации раневого процесса. Эта гипотеза подтверждается результатами исследований

Рис. 1. Пациентка М. до и через 3 нед лечения Промограном

Рис. 2. Пациентка З. до и через 3 нед лечения Промограном

Таблица 5

Показатели КА, ММП-2 и ММП-9 у больных через 3 нед лечения (M±σ)

Группы больных	КА		ММП-2		ММП-9	
	Клеточный гомогенат (нг/мг)	Сыворотка крови (нг/мл)	Клеточный гомогенат (нг/мг)	Сыворотка крови (нг/мл)	Клеточный гомогенат (нг/мг)	Сыворотка крови (нг/мл)
Промогран	46,5±16,8	172,1±12,3*	665±317,7*	561,3±102,4*	22,5±21,4	106,4±54,1
Контроль	51,1±11,8	291,5±17,5	752±276,0	832,1±132,7	32,7±13,4	110,3±53,5

* p>0,05.

[15], которые продемонстрировали, что повышение уровней протеиназ, особенно ММП, характерно для хронических ран (трофических язв) любого генеза, в том числе и при синдроме диабетической стопы. В то же время нет четких данных об особенностях динамики отдельных представителей семейства протеаз в ходе репаративного процесса.

Рис. 3. Пациентка Щ. до и через 3 нед после стандартного лечения

Результаты, полученные у пациентов обеих групп до начала лечения продемонстрировали высокий уровень КА, ММП-2 и ММП-9 как в сыворотке крови, так и в клеточном гомогенате. Исследование, проведенное через 3 нед терапии, выявило достоверно более выраженное снижение коллагенолитической активности в материале пациентов основной группы по сравнению с контрольной. Особенно значительные изменения зарегистрированы в уровне ММП-2 как в сыворотке крови, так и в клеточном гомогенате. Это подтвердило имеющиеся в литературе данные об эффективности использования Промограна у больных с трофическими язвами нижних конечностей. Была выявлена прямая корре-

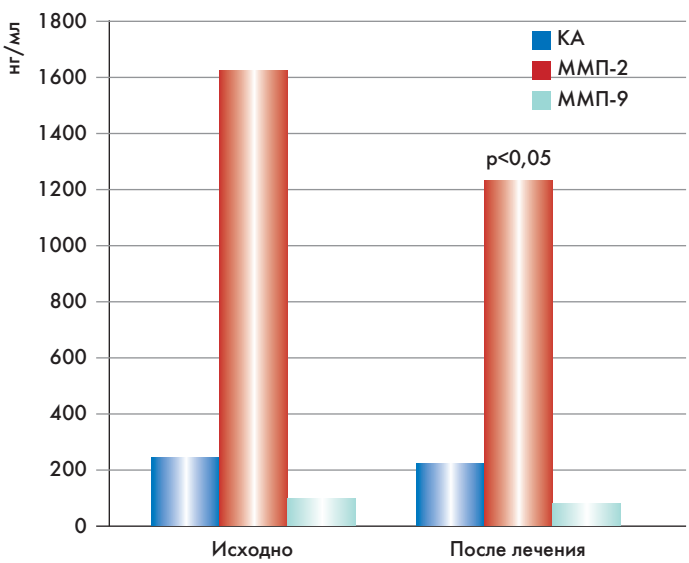

Рис. 4. Коллагенолитическая активность, ММП-2 и ММП-9 клеточного гомогената больных на фоне лечения Промограном

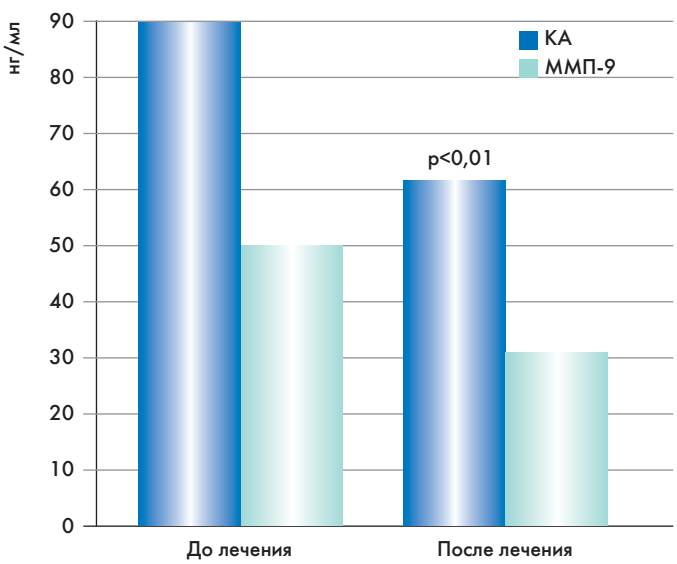

Рис. 5. Динамика коллагенолитическойой активности и ММП-9 сыворотки крови на фоне лечения Промограном

ляционная зависимость изменений активности ферментов в крови и тканях раны (r=0,7), что дает возможность использовать сыворотку крови для оценки течения раневого процесса.

Таким образом, проведенное исследование показало, что коллагенсодержащие повязки могут эффективно использоваться в комплексной терапии пациентов с нейропатической формой синдрома диабетической стопы. Эффект Промограна основан на его способности снижать активность раневых протеолитических ферментов, препятствуя тем самым лизису белковых структур, в первую очередь коллагена. Применение данного средства закрытия раны позволяет значительно сократить сроки заживления трофических язв стоп у больных этой группы, что ведет к значительному снижению затрат на госпитальном этапе лечения.

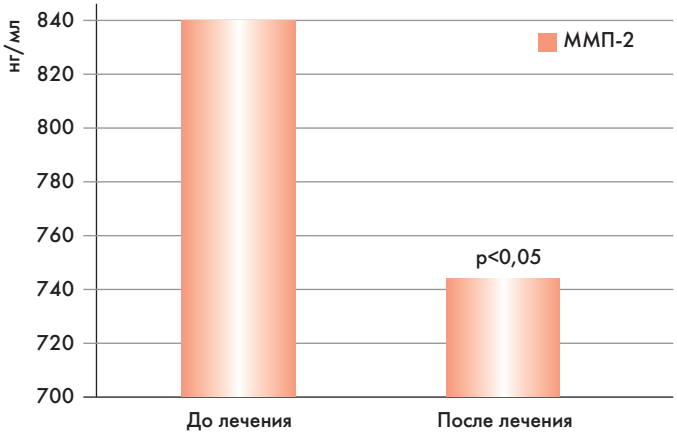

Рис. 6. Динамика ММР-2 сыворотки крови на фоне лечения Промограном

Литература

1. Ross R.T. How to examine the nervous system, 3-th ed. Stamford: CT, Appleton&Lange. - 1999. – 64 p.
2. Reiber G.E. Epidemiology of foot ulcers and amputations in the diabetic foot. / In: Levin and O`Neal`s The Diabetic Foot (6-th ed.). Mosby. – 2001. - p.13-32.
3. Fedele D., Comi G., Coscelli C., Cuccinota D. et al. Italian diabetic neuropathy Commetec. A multicentre study on the prevalence of diabetic neuropathy in Italy. // Diabetes Care. – 1997. – v. 620. – p. 836-843
4. Sytze Van Dam P., Sweder Van Asbeck B., Willem Erkelens D. et al. The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. // Diabetes\Metabolism Reviews. – 1995. – v. 11, №3. – p. 181-192.
5. Gillard J., Reed M.W.R., Buttle D., Cross S.S. et al. Matrix metalloproteinase activity and immunuhistichemical profile of matrix metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 during human dermal wound healing.// Wound Rep Reg. - 2004. – v. 12, №3. – p. 295-304.
6. Baker E.A., Leaper D.J. Profiles of matrix metalloproteinase and their tissue inhibitors in intraperitoneal drainage fluid: relationship to healing. // Wound Rep Reg. – 2003. – v. 11, №4. – p. 268-274.
7. Murphy G. Matrix metalloproteinase and their inhibitors. // Acta Orthop Scand Suppl. – 1995. – v. 266. – p. 55-60.
8. Singer A.J., Clark R.A. Mechanisms of disease: cutaneous wound healing. // N Eng J Med. – 1999. – v. 341. – p. 738-746.
9. Soo C., Shaw W., Zhang X., Longaker M.T. et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and tissue-derived inhibitors in cutateous wound repair.// Plast Reconstr Surg. – 2000. – v. 105. – p. 638-647
10. Cullen B., Smith R., Macculloch E., Silcock D., Morrison L. Mechanism of action of PROMOGRAN, a protease modulating matrix, for the treatment of diabetic foot ulcers. // Wound Rep Reg. – 2002. – v. 10, № 1. – p. 16-25.
11. Schultz G.S., Sibbald R.G., Falanga V., Ayello E.A. et al. Wound bed preparation: a systemic approach to wound management. \\ Wound Rep Reg. - 2003. – v. 11, suppl 2. - 1s-28s.
12. Arkell J., Jackson C.J. Constitutive secretion of MMP-9 by early-passage cultured human endotelial cells. // Cell Biochem Funct. - 2003. – v. 21, №4. – p. 381-386.
13. Clark R.A.F. Wound repair: overview and general considerations. / In: Clark R.A.F., editor. The molecular biology of wound repair (2-nd ed.). New York: Plenum Press. – 1996. – p. 3-51.
14. Barrick B., Campbell E.J., Owen C.A. Leukocyte proteinases in wound healing: roles in physiologic and pathologic processes. //Wound Rep Reg. – 1999. – v. 7. – p. 410-422.
15. Bullen E.C., Longaker M.T., Updike D.L., Benton R. Et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 is decreased and activated gelatinases are increased in chronic wounds. //J Invest Dermatol. – 1995. – v. 104. – p. 236-240.