

На правах рукописи

Комелягина Елена Юрьевна

**Синдром диабетической стопы: клинико-морфологические
особенности и персонализированная тактика лечения**

3.1.19. – Эндокринология (медицинские науки)

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва- 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор Анциферов Михаил Борисович.

Официальные оппоненты:

Петунина Нина Александровна – доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им.И.М.Сеченова» Минздрава России, заведующий кафедрой эндокринологии института клинической медицины им.Н.В.Склифосовского

Галстян Гагик Радикович - доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, заведующий отделением диабетической стопы

Бреговский Вадим Борисович - доктор медицинских наук, СПб ГБУЗ "Городской консультативно-диагностический центр №1", СПб территориальный диабетологический центр, кабинет "Диабетическая стопа", врач кабинета диабетической стопы

Ведущая организация: ФГАОУ «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Минздрава России

Защита диссертации состоится 18 октября 2023 года в 12 часов на заседании диссертационного совета 21.3.054.06 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д.19/38 и на сайте: www.rmapo.ru.

Автореферат разослан " ____ " _____ 2023г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Самсонова Любовь Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Синдром диабетической стопы (СДС) является поздним осложнением сахарного диабета (СД) и одной из основных причин выполнения нетравматических ампутаций нижних конечностей. Стойкая утрата трудоспособности, инвалидизация больных, высокая послеоперационная летальность, повышенный риск потери контралатеральной конечности относят это осложнение к социально значимым. В последние годы интерес к данной проблеме существенно возрос. Следует отметить, что в изучении СДС достигнут значительный прогресс. Обозначены конкретные мероприятия, направленные на снижение количества высоких ампутаций. Внедрение междисциплинарного подхода к ведению данной категории больных приводит к снижению количества ампутаций нижних конечностей. Определены факторы, препятствующие заживлению хронических ран [Международное Соглашение по диабетической стопе, 2019]. Однако, многие вопросы требуют дальнейшего изучения. Прежде всего, большую озабоченность вызывают сроки заживления ран. По данным литературы на фоне стандартного лечения лишь 20-30% язвенных дефектов эпителизируются за 12 недель лечения [Jeffcoat W., 2006, Lev-Tov H., 2013]. В 70-80% случаев сроки заживления составляют год и более [Armstrong D., 2016]. Из клинической практики известно, что часть язвенных дефектов не отвечает на проводимое консервативное лечение и не заживает в течение года и больше. В ряде случаев требуется совместное ведение пациента с ортопедом или хирургом для выполнения малых хирургических вмешательств, необходимых для заживления хронической раны. При этом, алгоритм действий длительно незаживающих ранах с участием смежных специалистов требует доработки.

В настоящее время основой дифференцированного подхода к лечению больных с язвенными дефектами при СДС является состояние магистрального кровотока в артериях нижних конечностей [Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом, 2019]. Однако, хронические раны со сходным состоянием магистрального кровотока различаются по целому ряду

других характеристик, что может обуславливать неодинаковый ответ на проводимую терапию. В этой связи, актуален поиск дополнительных параметров, влияющих на исход лечения.

Попытки внедрения в клиническую практику инновационных средств местного лечения язвенных дефектов вызвало большое количество вопросов о месте адьювантных методов терапии в алгоритме лечебных мероприятий язвенных дефектов при СДС. В настоящее время данные об эффективности этого вида терапии противоречивы, а показания и противопоказания к их применению изучены недостаточно и являются предметом для дискуссии [Martí-Carvajal A., Cochrane Systematic Review, 2015].

Таким образом, проблема лечения СДС с хроническими язвенными дефектами является актуальной научно-практической задачей и требует поиска новых факторов, позволяющих разработать подходы к персонализации лечебных мероприятий у данной категории пациентов.

Степень разработанности проблемы

В основе персонифицированного подхода к лечению лежит выбор лечебных мероприятий на основе индивидуальных особенностей пациента. В случае с таким социально- значимым осложнением как СДС, речь идет о многофакторном воздействии на течение осложнения и его исходы, который включает способ оказания медицинской помощи (амбулаторный или стационарный), клинические индивидуальные характеристики пациента, морфологические особенности течения раневого процесса.

В настоящее время, достаточно полно изучено негативное влияние на течение хронических язвенных дефектов при СДС таких параметров как недостаточность магистрального кровотока в пораженной конечности, наличие и степень тяжести инфекции в ране, отсутствие разгрузки при плантарной локализации процесса. Разработаны и стандартизированы лечебные мероприятия с учетом вышеперечисленных состояний [Международное Соглашение по диабетической стопе, 2019; Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом, 2019]. При этом, из клинической практики известно, что существует большая разница в сроках заживления язвенных дефектов с адекватным магистральным кровотоком в пораженной конечности и без признаков инфекции (от 30 дней до года и более), а в ряде случаев

отсутствие заживления в результате консервативных мероприятий. В этой связи, представляет интерес поиск новых параметров, позволяющих выявить дополнительные факторы для персонализации терапии хронических язвенных дефектов при СДС.

Особую актуальность в данном аспекте приобретает изучение патоморфологических особенностей язвенных дефектов при СДС, выявление возможных различий в их морфологических характеристиках, определение иммуногистохимических параметров, влияющих на репарацию. В доступной литературе есть работы, посвященные морфологии репаративных процессов хронических ран, включая раны при СДС [Huang S.,2015; Millán-Rivero J,2019; Schneider C.,2021; Alam W.,2021]. Однако, подавляющее большинство этих работ выполнено на животных и имеет экспериментальный характер, что не позволяет соотносить их в полной мере с реальной клинической практикой. В отечественной литературе опубликованы работы, по изучению патоморфологических особенностей раневого экссудата, кожи, костной ткани у больных с СДС [Токмакова А.Ю., 2007; Зайцева Е.Л., 2016; Артемова Е.В., 2017].

Работ, оценивающих морфологические особенности язвенных дефектов при СДС с точки зрения исхода, выявления параметров влияющих на этот исход, соотношения их морфологических особенностей с клиническими характеристиками нет. Таким образом, данный вопрос недостаточно проработан и освещен в литературе. Между тем, изучение особенностей репарации язвенных дефектов при СДС с точки зрения различий в патоморфологии может послужить основой для персонализации лечебных мероприятий и улучшения исходов (снижение количества ампутаций на разных уровнях, сокращение сроков заживления, уменьшение рецидивирующих язвенных дефектов).

В тесной связи с особенностями патоморфологии находится вопрос назначения адьювантной терапии для сокращения сроков заживления язвенных дефектов при СДС. В последнее время особую актуальность приобрела возможность применения инновационных методов лечения язвенных дефектов при СДС. К ним можно отнести применение коллагенов, ростовых факторов; терапию, основанную на клеточных технологиях. Имеющиеся в литературе работы не дают однозначного ответа на вопрос о необходимости их применения и дифференцированном назначении в зависимости от характеристик

хронических ран. В этой связи, изучение показаний, противопоказаний и анализ эффективности данных видов лечения может помочь персонифицировать назначение этого вида терапии.

Следует отметить, что данных по эффективности оказания специализированной помощи на амбулаторном этапе практически нет. За 20 лет работы отделения диабетической стопы ГБУЗ «Эндокринологический диспансер ДЗМ» с 2002 г. накоплен большой опыт по оказанию специализированной помощи больным с СДС в амбулаторных условиях. Обобщение и анализ этого опыта, базирующегося на международных стандартах, позволят оценить эффективность лечебных мероприятий, проанализировать прогностически значимые факторы различных исходов течения хронических язвенных дефектов при СДС, определить место адьювантной терапии с точки зрения специализированной амбулаторной (догоспитальной) помощи больным с СДС.

Таким образом, комплексный, системный подход в оценке системы оказания амбулаторной помощи больным с СДС позволит стратифицировать пациентов с хроническими длительно незаживающими язвенными дефектами при СДС для последующего дифференцированного выбора терапии, включая совместное ведение с врачами смежных специальностей и назначение инновационных методов лечения.

Цель исследования

Разработка персонифицированной тактики оказания амбулаторной специализированной помощи больным с язвенными дефектами при синдроме диабетической стопы с использованием клинико-морфологических подходов.

Задачи исследования:

1. Проанализировать клинические параметры и исходы язвенных дефектов у пациентов с синдромом диабетической стопы, получающих лечение на догоспитальном этапе в специализированном отделении диабетической стопы.
2. Изучить морфологические фенотипы ран и определить исходы течения язвенных дефектов в зависимости от выявленного фенотипа.
3. Проанализировать клинические характеристики пациентов, соответствующие выявленным морфологическим фенотипам язвенных дефектов.

4. Изучить молекулярный профиль язвенных дефектов, соответствующий выявленным фенотипам.
5. Проанализировать прогностическую ценность клинических и морфологических факторов, влияющих на заживление язвенных дефектов при СДС.
6. Оценить эффективность лечения язвенных дефектов с использованием плазмы, обогащенной факторами роста; эпидермального фактора роста.

Объект и предмет исследования

Объект исследования – пациенты с сахарным диабетом, осложненным синдромом диабетической стопы. Предмет исследования- клинические и морфологические характеристики язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации на большом клиническом материале проанализированы результаты лечения пациентов с синдромом диабетической стопы, обратившихся за специализированной амбулаторной помощью.

Определены предикторы заживления и отсутствия заживления, факторы, влияющие на скорость эпителизации язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы.

Идентифицированы морфологические фенотипы, различающиеся по соотношению грануляционной, некротической и фиброзной тканей.

Предложено рассчитывать коэффициент репарации для описания морфологической характеристики язвенного дефекта и оценки его репарационного потенциала.

Определен молекулярный профиль каждого фенотипа.

Выявлена зависимость морфологических характеристик образца, уровня экспрессии факторов роста в ране и рецепторов к ним, маркеров пролиферации, маркеров наличия в ране собственных клеток, обладающих свойствами стволовых клеток от длительности существования раны.

Доказана и научно обоснована зависимость скорости заживления и исхода лечения язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы от выявленного морфологического фенотипа.

Выделены молекулярные предикторы заживления и отсутствия заживления язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы.

Предложено оценивать прогноз исхода течения язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы по уровню экспрессии ядерного белка Ki67.

Выявлена роль клеток, экспрессирующих рецепторы стволовых клеток (CD34, ALDH1) на течение процесса заживления язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы.

Установлена нецелесообразность амбулаторного применения местной терапии язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы факторами роста с точки зрения патоморфологических особенностей этих ран.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработана и научно обоснована новая концепция подхода к ведению пациентов с синдромом диабетической стопы, основанная на клинико-морфологических особенностях хронических язвенных дефектов стоп.

Сформулирована научная идея персонализации терапии язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы, в основе которой лежит определение морфологического фенотипа хронической раны.

Дана комплексная оценка эффективности специализированной помощи пациентам с синдромом диабетической стопы на амбулаторном этапе. Приведен анализ частоты встречаемости различных форм синдрома диабетической стопы, исходов язвенных дефектов, факторов, влияющих на них. Продемонстрирована высокая эффективность дифференцированного подхода и своевременности оказания специализированной помощи пациентам с различными формами синдрома диабетической стопы.

Предложены новые маркеры заживления язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы. Даны практические рекомендации по дифференцированному ведению таких ран, включая показания к направлению к смежным специалистам.

Разработан алгоритм персонализации терапии язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы, основанный на их морфологических фенотипах.

Предложено использовать в диагностическом алгоритме обследования пациентов с язвенными дефектами при синдроме диабетической стопы иммуногистохимические методы.

Практическая значимость результатов диссертационной работы подтверждается патентами РФ на изобретение «Способ определения прогноза заживления раневого дефекта при синдроме диабетической стопы» (№ 274 2760 от 10.02.21 г.) и «Способ персонификации терапии язвенного дефекта при синдроме диабетической стопы» (№ 2785531 от 08.12.22 г.).

Методология и методы исследования

Методология исследования основана на структурно-функциональном комплексном подходе, предусматривающим определение клинических и морфологических маркеров заживления хронических язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы. Планирование и проведение работы осуществлялось в соответствии с базовыми методологическими принципами: комплексность, целостность, объективность, достоверность. Теоретические методы включали в себя научный анализ данных литературы с использованием таких информационных ресурсов как "PubMed", "Mesh Database", "e-library". Все исследования выполнены на высоком методологическом уровне с использованием сертифицированного оборудования. Анализ полученных результатов проводили при помощи программы SPSS 17.0.

Положения, выносимые на защиту

1. Идентифицированы два морфологических фенотипа язвенных дефектов, различающихся по соотношению грануляционной ткани, фиброза и некроза. Выявленные фенотипы значимо отличаются по экспрессии факторов роста и рецепторов к ним, маркерам пролиферации, наличию клеток, экспрессирующих рецепторы стволовых клеток (CD34, ALDH1). Исходы язвенных дефектов, включая заживление или отсутствие заживления, а также сроки эпителизации зависят от их принадлежности к одному из морфологических фенотипов. В этой связи, стратегия и тактика лечения при разных морфологических фенотипах отличаются. Пациенты с язвенными дефектами морфологического фенотипа 1 вида могут получать консервативную терапию согласно стандартам,

пациенты с язвенными дефектами морфологического фенотипа 2 вида должны курироваться совместно с хирургами (ортопедами или пластическими).

2. Доказано, что наибольшую прогностическую ценность, определяющую вероятность заживления и его сроки, имеют уровень экспрессии ядерного белка Ki67 (маркер пролиферации), уровень экспрессии CD34 (маркер стволовой клетки и ангиогенеза).

3. Установлено, что назначение факторов роста в качестве местной дополнительной терапии хронических язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы в амбулаторной практике нецелесообразно, так как не имеет преимуществ по сравнению со стандартной терапией.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует шифру специальности 3.1.19. – Эндокринология. Формула специальности - "клиническая эндокринология" направлена на изучение этиологии и патогенеза эндокринных заболеваний их диагностики, лечения и профилактики. Диссертационная работа является комплексным исследованием, позволяющим оценить закономерности и особенности течения раневых дефектов при синдроме диабетической стопы и предложить персонализацию терапии осложнения на основе морфологических фенотипов язвенных дефектов, и соответствует п. 4 и 5 области исследования:

п.4 Этиология и патогенез эндокринных заболеваний, клинические проявления, методы диагностики заболеваний эндокринной системы с использованием клинических, лабораторных, инструментальных и других методов исследования, дифференциальная диагностика различных форм нарушений гормональной регуляции.

п.5 Лечение эндокринных заболеваний: гормонотерапия, химиотерапия, хирургическая коррекция, лучевая терапия, патогенетическая терапия. Разработка новых методов лечения эндокринных заболеваний (генотерапия, поиск локаторов и стимуляторов секреции гормонов и др.).

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность результатов определена достаточным объемом выборки (503 язвенных дефекта при СДС, 89 образцов для иммуногистохимического анализа с целью определения морфологических фенотипов), применением современных клинко-морфологических методов исследования, статистических методов для оценки достоверности полученных результатов. Сформулированные выводы и рекомендации соответствуют цели и задачам исследования.

Диссертационная работа одобрена локальным этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Протокол № 5 от 15.05.2018 г.).

Апробация работы проведена на расширенном заседании кафедры эндокринологии ФГБОУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Минздрава России 16 июня 2022 года (протокол № 4) .

Результаты исследования доложены и обсуждены на: VI Всероссийском съезде эндокринологов (Москва, 2014 г.), 7 Международном Симпозиуме по диабетической стопе (Гаага, Нидерланды; 2015 г.), 2 Международном научно-практическом конгрессе "Сахарный диабет и хирургические инфекции (Москва, 2015 г.), VII Всероссийском диабетологическом конгрессе (Москва, 2015 г.), XI съезд эндокринологов (Москва, 2015 г.), VII Всероссийском съезде эндокринологов (Москва, 2016 г.), 26 Европейском конгрессе по изучение ран - получена первая премия за устное выступление (Бремен, Германия; 2016 г.), 3 Международном научно-практическом конгрессе "Сахарный диабет и хирургические инфекции" (Москва, 2017 г.), 8 Международном симпозиуме по проблемам диабетической стопы (Гаага, Нидерланды; 2019 г.), IX Национальном диабетологическом конгрессе с международным участием "Сахарный диабет и ожирение- неинфекционные междисциплинарные пандемии XXI века" (Москва, 2022 г.).

Личный вклад автора

Автором лично разработан дизайн исследования, сформулированы цель и задачи диссертационной работы, положения, выносимые на защиту, обоснована актуальность темы диссертации. Автору принадлежит ведущая роль в постановке проблемы, разработке программы исследования, его методологии. Обработка и интерпретация полученных данных, формулировка основных положений и выводов осуществлена соискателем лично. Личный вклад автора в изучении литературы, обобщении, анализе клинических материалов и написании диссертации равен 100%.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в клиническую практику работы отделения диабетической стопы ГБУЗ «Эндокринологический диспансер Департамента здравоохранения города Москвы». Основные положения диссертационной работы внедрены в учебный процесс Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, где включены в курс лекций и практических занятий.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 22 научных работы, в том числе 17 статей в ведущих рецензируемых журналах и изданиях, определенных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования РФ. 4 публикации в изданиях, входящих в систему SCOPUS Web of Science. Получены патенты на изобретение: № 2742760 от 10.02.21 "Способ определения прогноза заживления раневого дефекта при синдроме диабетической стопы" и № 2785531 от 08.12.22 г. "Способ персонификации терапии язвенного дефекта при синдроме диабетической стопы".

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Диссертация

изложена на 205 страницах машинописного текста, иллюстрирована 31 рисунком, содержит 55 таблицы.

Список литературы включает 203 наименования работ, из них 21 отечественных авторов, 182 – зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Работа была выполнена на базе отделения диабетической стопы ГБУЗ «Эндокринологический диспансер Департамента здравоохранения города Москвы». В исследовании приняли участие пациенты, обратившиеся за специализированной помощью в отделение диабетической стопы. Работа носила комплексный характер и включала ретроспективную, проспективную и интервенционную части. Для каждой части был разработан дизайн, определены основные параметры в соответствии с целью работы (Рисунок 1).

На **первом** этапе (ретроспективная часть) работы использовалась электронная база данных отделения, составленная на основании амбулаторных карт пациентов, которые проходили лечение с 2014 по 2019 гг. Критерии включения: пациенты с диагностированным сахарным диабетом 1 или 2 типов и наличием язвенных дефектов при СДС; желание и способность пациента выполнять рекомендации врача. В анализ не были включены амбулаторные карты больных, не выполняющих рекомендации врача, не посещавших клинику в течение 3-х и более месяцев. В окончательный анализ вошли 503 пациента [СД 1/2 типов : 9,5/90,5 (%), средний возраст $62,8 \pm 11$ лет, М/Ж: 55/45(%), HbA1c- $8 \pm 1,62$ (%)].

На **втором** этапе работы (проспективная часть) были изучены морфологические особенности хронических язвенных дефектов при СДС. Критерии включения: пациенты с СД 1 или 2 типа старше 18 лет с наличием нейропатического язвенного дефекта при отсутствии признаков инфекционно-воспалительного процесса, выполняющие рекомендации врача по лечению язвенных дефектов. Критерии невключения: язвенные дефекты, протекающие на фоне критической ишемии конечности; язвенные дефекты нижних конечностей другой этиологии, не относящиеся к синдрому диабетической стопы; язвенные дефекты, локализованные в пределах стоп с подозрением

на злокачественное новообразование; язвенные дефекты при СДС с признаками инфицирования; нежелание пациента соблюдать рекомендации врача.



Рисунок 1. Дизайн исследования.

Проанализировано 89 образцов, соответствующих критериям включения и невключения. Это были язвенные дефекты у пациентов с длительностью СД 15 ± 10 лет, средним уровнем HbA1c $8,1 \pm 1,5\%$. У всех больных были отмечены выраженные признаки периферической полинейропатии (НДС- $14, \pm 3,64$ балла; , вибрация- $47,49 \pm 12$ Вольт). Проллиферативная стадия диабетической ретинопатии диагностирована у 23 человек (26%), у 2 пациентов (2%) - терминальная стадия диабетической нефропатии. В большинстве случаев (74%) язвенные дефекты располагались на плантарной поверхности. Больные обращались за специализированной помощью через 9 - 2075 дней с крайне неравномерным распределением [в среднем 36,5 дня (6; 110)].

На **третьем** этапе (интервенционная часть) проводилась оценка эффективности воздействия на язвенный дефект аппликаций аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами и внутриваневых инъекций эпидермального фактора роста. Критерии включения в прокол по применению плазмы, обогащенной факторами роста: язвенные дефекты у больных сахарным диабетом 1 или 2 типа, расположенные ниже голеностопного сустава; уменьшение площади раны менее чем на 50% за 4 недели лечебных процедур; отсутствие признаков системного или местного инфицирования раны; лодыжечно-плечевой индекс (ЛПИ) на тиббиальных артериях пораженной конечности $\geq 0,9$; уровень HbA1c $\leq 9\%$; желание и возможность соблюдать рекомендации врача. Критерии невключения в исследование: язвенные дефекты расположенные выше голеностопного сустава или в межпальцевых промежутках; клинические признаки системного или местного воспаления; критическая ишемия пораженной конечности; невозможность или нежелание пациента соблюдать рекомендации врача. В исследовании приняли участие 80 пациентов, преимущественно с СД 2 типа (95%) в возрасте 58 ± 8 лет, длительностью СД 14 ± 9 лет, средним уровнем HbA1c $8,2 \pm 1,7(\%)$.

Критерии включения в исследование по оценке эффективности внутриваневых инъекций эпидермального фактора роста: пациенты с СД 1 или 2 типов старше 18 лет; наличие глубокой язвы площадью $\geq 1 \text{ см}^2$; отсутствие видимых клинических признаков инфекционно-воспалительного процесса; отсутствие критической ишемии; ЛПИ $\geq 0,6$, но $\leq 1,3$ или плече-пальцевой индекс (ППИ) $\geq 0,5$. Критерии невключения в протокол исследования: площадь язвы $< 1 \text{ см}^2$; HbA1c

$\geq 11\%$; - наличие рентгенологических признаков остеомиелита; стопа Шарко; показатель транскутанной оксиметрии < 30 мм.рт.ст.; - гемоглобин < 100 г/л; - злокачественное новообразование; - инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, сердечная недостаточность, IV функциональный класс; хроническая почечная недостаточность; любое другое заболевание, способное по мнению исследователя, повлиять на участие в исследовании. В данном разделе представлены данные субанализа 13 пациентов, получающих помощь в амбулаторных условиях. Это были пациенты преимущественно с СД 2 типа (77%), со средним возрастом 56 ± 8 лет, средним уровнем HbA1c $8,2 \pm 1,3\%$.

Всем пациентам проводилась оценка состояния магистрального кровотока и периферической чувствительности. Снижение магистрального кровотока нижних конечностей диагностировалось на основании пальпации тибиальных артерий обеих нижних конечностей, ультразвуковой доплерографии и доплерометрии с оценкой состояния пульсовой волны. При необходимости выполнялись: 1. дуплексное сканирование артерий нижних конечностей; 2. транскутанная оксиметрия на пораженной конечности (TcPO₂). При уровне TcPO₂ < 40 мм.рт.ст. пациент в исследование не включался. Состояние периферической чувствительности оценивалось по исследованию тактильной, болевой, вибрационной чувствительностей, а также коленных и ахилловых рефлексов. Для суммарной оценки этих параметров использовался нейропатический дисфункциональный счет (шкала НДС). Всем пациентам назначался комплекс мероприятий для лечения нейропатических язвенных дефектов с учетом локализации процесса, степени инфицирования и глубины ран. Соблюдение режима разгрузки являлось обязательным условием при плантарной локализации раны. При наличии признаков инфицирования язвенного дефекта назначались системные антибактериальные препараты с возможностью коррекции терапии на основании результатов микробиологического анализа. Выбор средств для местной терапии проводился с учетом особенностей и фазы течения раневого процесса.

В качестве возможных факторов, влияющих на сроки заживления ран, рассматривались следующие показатели:

1. Демографические данные (пол, возраст).

2. Параметры, относящиеся к основному заболеванию:

2.1 Степень контроля СД (уровень HbA1c).

2.2 Наличие пролиферативной стадии диабетической ретинопатии.

2.3 Наличие терминальной стадии диабетической нефропатии.

3. Параметры, относящиеся к язвенному дефекту.

3.1 Длительность существования раны. Данный показатель вычислялся на основании анамнестических данных о дате возникновения раны со слов пациента и дате первичного визита с имеющимся язвенным дефектом в отделение диабетической стопы. По длительности существования язвенные дефекты были разделены на следующие группы: до 30 дней, 31- 90 дней, 91-180 дней, 181-365 дней, > 365 дней.

3.3. Форма СДС: нейропатическая или нейроишемическая.

3.4. Расположение язвенного дефекта: плантарно или не плантарно (тыл или пальцы стопы, межпальцевые промежутки и т.д.).

3.5. Размер язвенного дефекта. Площадь поражения определялась при помощи планиметрии. Язвенные дефекты были ранжированы следующим образом: <1 см², 1- 5 см², > 5 см².

3.6. Глубина язвенного дефекта оценивалась в соответствии с классификацией Вагнера (Wagner).

3.7. Инфицирование язвенного дефекта диагностировалось по наличию двух и более признаков при первичном обращении пациента: локальной гипертермии, гиперемии и отека окружающих тканей, отделяемого гнойного характера, боли в области поражения пульсирующего характера, неприятного запаха из язвенного дефекта, системном повышении температуры, лимфангите.

Морфологические методы исследования выполнялись в Институте клинической морфологии и цифровой патологии Института клинической медицины им.Н.В.Склифосовского ФГАУ ВО Первый МГМУ имени И.М.Сеченова и включали:

- морфологический анализ образцов язвенных дефектов с определением относительной площади некроза, грануляций и фиброза (в %);

- иммуногистохимические реакции с определением:

- маркеров пролиферации: ядерного белка Ki 67, гладкомышечного актина (SMA) и цитокератина (СК);

- факторов роста и рецепторов к ним: эпидермального фактора роста (ЭФП) и рецептора к нему (ЭФПр), сосудистого эндотелиального фактора роста (СЭФР) и рецептора к нему, инсулиноподобного фактора роста (ИФР) и рецептора к нему (ИФРр);
- маркеров наличия в ране клеток, экспрессирующих рецепторы стволовых клеток : ALDH, CD34.

Методы статистической обработки данных.

Сравнение групп проводилось при помощи таблиц сопряженности с вычислением критерия χ^2 (при номинальных переменных) и критерия Стьюдента (при непрерывных переменных). В случае неравномерного распределения данных для сравнения двух независимых выборок применялся метод Манна-Уитни с вычислением U-критерия. Для сравнения нескольких независимых выборок при нормальном распределении данных применялся однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. При неравномерном распределении данных для сравнения нескольких независимых выборок применялся дисперсионный анализ Краскала — Уоллеса с вычислением H-критерия. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Для построения модели прогноза наступления события (например, выполнения высокой ампутации или заживления хронического язвенного дефекта) применялись методы логистической регрессии и построения "дерева решений".

Для выявления факторов, потенциально способных оказывать значимое влияние на сроки заживления язвенных дефектов был использован метод регрессии Кокса. При этом, в данной модели в качестве «объекта» выступала вся когорта больных с СДС, проходивших лечение в исследуемый период времени. В качестве «события» рассматривалось заживление язвенного дефекта. В качестве «времени»: 1) в случае заживления - время от первичного обращения в клинику (начало лечения) до полной эпителизации раны; 2) если заживление не наступило за исследуемый период — время от начала лечения до окончания исследования; 3) если заживление наступило после хирургического вмешательства — время от начала лечения до даты выполнения вмешательства; 4) если связь с

пациентом была утрачена – время от начала лечения до даты последнего визита в клинику.

На предварительном этапе работы проводился корреляционный анализ для выявления возможного взаимного влияния параметров. Применялись коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена. При выявлении между переменными коэффициента корреляции ≥ 0.5 одновременное использование этих переменных в регрессии Кокса не проводилось [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клинические параметры и исходы язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы у пациентов, получающих лечение на догоспитальном этапе

В данном разделе работы анализировались исходы и сроки заживления язвенных дефектов у пациентов с синдромом диабетической стопы. В исследуемой когорте оценивались следующие варианты исходов: заживление язвенного дефекта, ампутация конечности, продолжение лечения на момент окончания периода исследования, смерть. Исследуемым периодом считались 12 месяцев наблюдения. Заживление определялось как полная эпителизация язвенного дефекта и отсутствие рецидива в течение 4-х недель после заживления. В эту группу вошли пациенты у которых заживление язвенных дефектов наступило в результате консервативных лечебных мероприятий, а также после хирургического вмешательства без удаления пальцев или части стопы. При выполнении ампутации нижней конечности анализировался ее уровень. К высоким ампутациям относятся ампутации выше голеностопного сустава: на уровне голени или бедра. Ампутации пальцев стоп или части стопы, выполняемые до уровня голеностопного сустава относятся к невысоким или малым. Анализировалось соотношение различных форм СДС в когорте пациентов, наблюдающихся в отделении диабетической стопы с 2014 по 2019 годы. Из 503 пациентов с СДС нейропатическая форма СДС диагностирована у 336 (67%) пациентов, нейро-ишемическая у 167 (33%).

В течение исследуемого периода заживление без выполнения высоких и малых ампутаций в общей когорте пациентов с СДС (без учета статуса магистрального кровотока пораженной

конечности) отмечено в 407 случаев (81 %). В 32 (7%) случаях потребовалось выполнение ампутаций, из них: 23 (5%) в пределах стопы, 3 - на уровне голени (0,6%), 6- на уровне бедра (1,2%). Смерть констатирована у 6 пациентов (1,2%), из них у 2 после выполнения ампутации на уровне бедра. 61 пациент (12%) продолжал лечиться на момент окончания исследования (Рисунок 2).

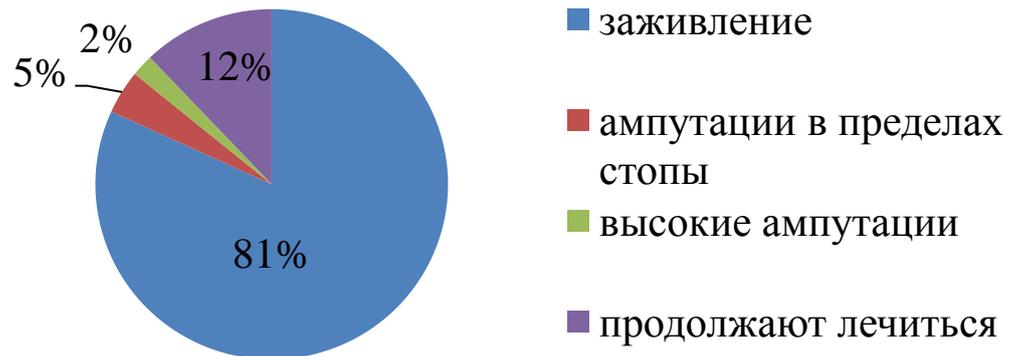


Рисунок 2 Исходы лечения язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы в когорте пациентов, наблюдавшихся в отделении диабетической стопы с 2014 по 2019 гг.

Таким образом, в подавляющем большинстве случаев (81%) удалось достичь заживления язвенных дефектов при СДС в результате проведения консервативных терапевтических мероприятий без выполнения ампутаций на любом уровне.

Учитывая различия патогенеза и прогноза нейропатической и нейро-ишемической форм СДС, была проведена стратификация когорты по наличию или отсутствию ишемии пораженной конечности. Пациенты с нейро-ишемической формой поражения были значительно старше ($60,2 \pm 11,2$ vs $67,2 \pm 9,4$; $p < 0,0001$) и чаще имели более запущенные варианты развития процесса в виде некроза всех слоев кожи (0% vs 3%; $p < 0,012$). В таблице 1 представлены исходы язвенных дефектов при различных формах СДС.

Таблица 1

Исходы язвенных дефектов при нейропатической (СДСн) и нейро-ишемической (СДСни) формах синдрома диабетической стопы

Исход	СДС нейропатическая (n= 336)	СДС нейро- ишемическая (n= 167)	p
Заживление	294 (87,2%)	113 (67,7%)	0,0001
Продолжают лечиться	31 (9,2%)	30 (18)	0,004
Смерть	2 (0,6%)	2 (1,2%)	0,405
Ампутации:			
всего	10 (2,9%)	22 (13,2%)	0,005
на уровне стопы	9 (2,6%)	14 (8,4%)	
на уровне голени	1 (0,3%)	2 (1,2%)	0,538
на уровне бедра	0	6 (3,6%)	0,01

У пациентов с нейропатической формой СДС заживление в течение года наступало значительно чаще, а ампутации на уровне стопы и бедра, выполнялись значительно реже, чем у пациентов с нейро-ишемической формой СДС. Следует отметить, что пациентам с нейропатическими язвенными дефектами ни одной ампутации на уровне бедра выполнено не было. Статистически достоверной разницы между группами по ампутациям на уровне голени и количеством смертей не выявлено. Кроме того, обращает на себя внимание достаточно небольшое количество высоких ампутаций за 5-летний период наблюдения.

Предикторами выполнения высоких ампутаций в общей когорте больных явились возраст, нарушение магистрального кровотока в артериях нижних конечностей, глубина язвенного дефекта по Вагнеру и уровень гликированного гемоглобина .

Параметры, относящиеся к характеристикам пациента, такие как пол, тип СД, вид сахароснижающего лечения, наличие и степень выраженности осложнений СД на выполнение высоких ампутаций не влияют.

Значимыми предикторами отсутствия заживления на фоне консервативных мероприятий в течение года явились: наличие

нарушенного магистрального кровотока и несвоевременное обращение за специализированной медицинской помощью.

При стратификации когорты по наличию или отсутствию нарушения магистрального кровотока предиктором не заживления в общей группе больных случаях было несвоевременное обращение за специализированной медицинской помощью, а при нейропатической форме СДС размер язвенного дефекта более 1 см^2 .

Средние сроки обращения за специализированной медицинской помощью в группе заживших язвенных дефектов составили 86 ± 163 дня, а в группе с незажившими - 302 ± 536 дней ($p=0,0001$).

Средние сроки заживления язвенных дефектов при СДС в группе язвенных дефектов, заживших в результате консервативных мероприятий без выполнения каких-либо хирургических вмешательств ($n=384$) составили 134 дня (93; 178). При этом 49% зажили за 90 дней, 46% - за 365 дней, из них 26% за 180 дней, 12% и 7,6% за 270 и 365 дней соответственно, 4,6% язвенных дефектов не зажили за 365 дней. В клинической практике условно оптимальными сроками заживления признано заживление за 90 дней (3 месяца). На сроки заживления в течение 3-х месяцев значимо влияют следующие факторы: сроки обращения за специализированной медицинской помощью ($p=0,0132$), небольшой размер раны (до 1 см^2 , $p=0,04$), отсутствие нарушения магистрального кровотока ($p=0,036$), глубина поражения по классификации Вагнера ($p=0,0001$). При этом, более высокая вероятность заживления в течение 3 месяцев выявлена только в отношении поверхностных язвенных дефектов на долю которых в исследуемой когорте приходилось 5,2%. Язвенные дефекты, захватывающие более глубокие слои составляют большинство - 94,8%. Вероятность их заживления за 3 мес. не зависит от поражения костей и связочного аппарата (Рисунок 3).

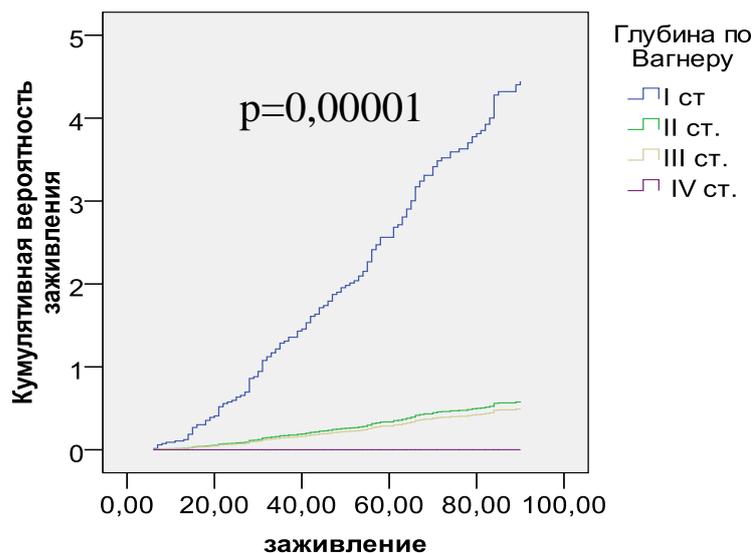


Рисунок 3. Кумулятивная вероятность заживления язвенных дефектов разной глубины за 3 месяца.

Раны размером до 1 см^2 включительно имеют более высокую вероятность заживления за 3 месяца, что вполне ожидаемо по сравнению с ранами размером от 1 до 5 см^2 . Раны, превышающие 5 см^2 , такой вероятности не имеют совсем (Рисунок 4).

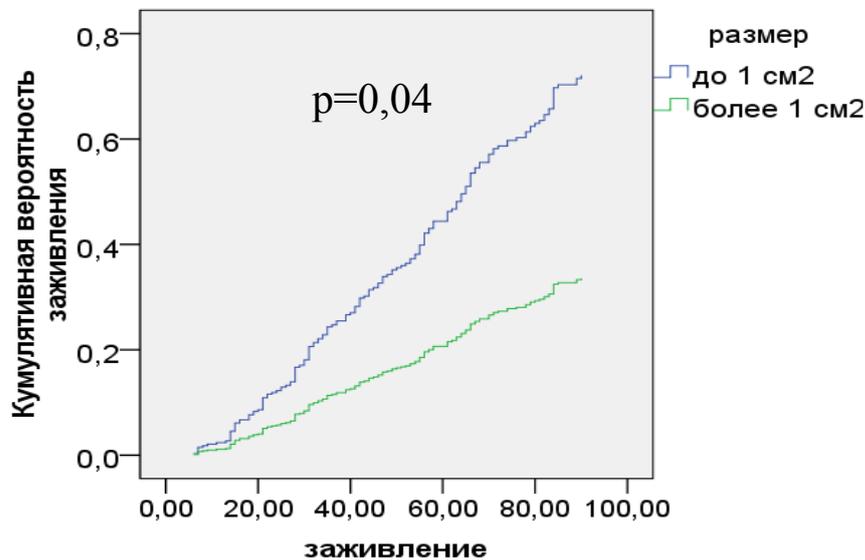


Рисунок 4. Кумулятивная вероятность заживления язвенных дефектов разного размера за 3 месяца.

Такие параметры, как пол, возраст, уровень контроля основного заболевания, наличие и степень выраженности поздних осложнений СД (ретинопатии и нефропатии), причина возникновения язвенного

дефекта, локализация, наличие инфицирования при первичном обращении не оказывают влияния на сроки заживления.

Сроки обращения пациента за специализированной помощью выступают в данной модели в роли независимого фактора, влияющего как на сам факт заживления, так и на вероятность заживления в более короткие сроки. Корреляций с другими параметрами, такими как размер раны и ее глубина, выявлено не было.

Таким образом, по полученным нами данным в выборке с достаточным количеством наблюдений в течение 5 лет, доля высоких ампутаций составила 1,8%. Следует обратить особое внимание на тот факт, что HbA1c является независимым предиктором выполнения высоких ампутаций. Повышение уровня HbA1c на 1% у пациентов с нарушением магистрального кровотока в 1,8 раз увеличивает риск высоких ампутаций у этой категории пациентов.

В настоящее время прогноз и дифференцированный подход к лечебной тактике определяется по состоянию магистрального кровотока в артериях пораженной конечности. При этом, нарушение магистрального кровотока в артериях нижних конечностей является независимым фактором риска выполнения высоких ампутаций нижних конечностей. Внедрение в алгоритмы лечебной тактики совместного ведения таких пациентов с сосудистыми хирургами привело к минимизации количества высоких ампутаций (1,8%), что указывает на возможность контроля этого параметра. То же самое можно сказать в отношении инфекции и плантарной локализации язвенных дефектов. Своевременное назначение антимикробной терапии и режима разгрузки оказывает позитивное влияние на заживление язвенного дефекта и его сроки, а также способствует снижению количества высоких ампутаций. Учитывая достаточно высокий процент язвенных дефектов, неэпителизирующихся в условно оптимальные сроки (3 месяца), остается нерешенным вопрос о дополнительных факторах, влияющих на скорость заживления хронических ран. За исключением небольшого размера раны и глубины поражения, других клинических параметров, оказывающих влияние на сроки заживления раны, получено не было. При этом, как указывалось выше, доля поверхностно расположенных ран в отношении которых получены значимые различия вероятности заживления за 3 месяца, в исследуемой когорте было минимальным.

Поэтому оно не может являться критерием персонификации лечебной тактики при СДС. В этой связи большой научно-практический и клинический интерес представляет поиск параметров для разработки новой концепции персонифицированной терапии пациентов с СДС. С этой целью был проведен анализ морфологических показателей язвенных дефектов у пациентов с СДС.

Анализ особенностей морфологических параметров язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы

Для разработки персонифицированной тактики лечения язвенных дефектов при СДС были изучены их морфологические характеристики. Проанализировано 89 образцов, соответствующих критериям включения и не включения. К особенностям морфологической картины образцов язвенных дефектов при СДС относится одновременное присутствие процессов, характерных для разных стадий репарации. Это может указывать на признаки хронизации процесса заживления исследуемых язвенных дефектов (Таблица 2).

Таблица 2.

Процентное соотношение грануляций, некроза, фиброза в образцах, полученных из язвенных дефектов у больных с нейропатической формой синдрома диабетической стопы.

Количество образцов	89
Грануляции (%)	47 ± 24
Некроз (%)	19 ± 22
Фиброз (%)	34 ± 20

Образцы были разделены на две группы: группа 1 (n= 56) - биопсии язвенных дефектов, заживших на фоне проведения консервативных мероприятий за год; группа 2 (n=33) - биопсии язвенных дефектов не заживших на фоне проведения консервативных мероприятий за год. Сравнительный морфологический анализ образцов, принадлежащих к разным группам, отражен в таблице 3.

Таблица 3.

Сравнительный морфологический анализ образцов язвенных дефектов при СДС, заживших и не заживших на фоне проведения консервативных мероприятий в течение года.

Параметр	Группа 1 (n= 56)	Группа 2 (n=33)	p
Грануляции (%)	60 ± 19	33 ± 23	0,0001
Некроз (%)	14 ± 16	28±26	0,004
Фиброз (%)	29 ± 18	39 ± 22	0,02

Таким образом, образцы язвенных дефектов заживших и не заживших в результате консервативных мероприятий достоверно отличались по соотношению некроза, грануляций и фиброза, что позволяет выделить различные виды морфологических фенотипов (МФ). Для язвенных дефектов МФ 1 вида, соответствующих 1 группе, характерно статистически значимое более высокое содержание грануляционной ткани, при меньшем содержании некротической и фиброзной тканей. Тогда как, во 2 группе (МФ 2 вида) отмечено преобладание фиброза.

Для определения репарационного потенциала ран на основании выявленных морфологических различий образцов было предложено вычисление коэффициента репарации (КР):

$$\text{Коэффициент репарации} = \frac{\text{Грануляции (\%)}}{\text{Фиброз (\%)+ Некроз (\%)}}$$

Соответственно, чем больше значение КР, тем выше репарационный потенциал раны. Выявленные морфологические фенотипы достоверно различались по КР ($2.29 \pm 3,04$ vs $0.95 \pm 1,78$, $p= 0,024$; Рисунок 5).

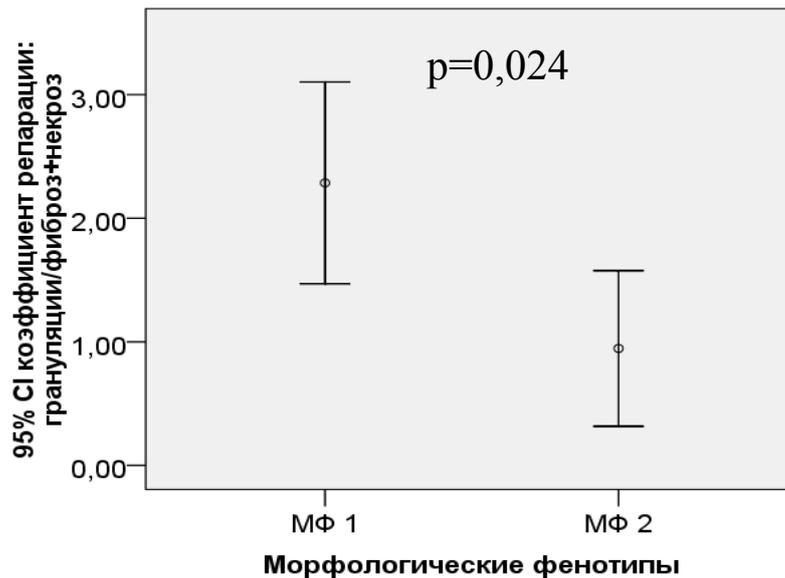


Рисунок 5. Коэффициент репарации язвенных дефектов различных морфологических фенотипов.

Изучение молекулярного профиля язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы с разными морфологическими фенотипами

На следующем этапе проводилось изучение молекулярного профиля выявленных морфологических фенотипов. Для этой цели исследовались следующие иммуногистохимические параметры биоптатов:

- факторы роста и рецепторы к ним: IGF, IGF_r, EGF, EGF_r, VEGF, VEGF_r;
- маркеры пролиферации: Ki67, SMA, панцитокератин;
- маркеры наличия в ране клеток, экспрессирующих маркеры стволовых клеток ALDH и CD34.

Результаты иммуногистохимического анализа экспрессии факторов роста и рецепторов к ним в биоптатах представлены в Таблице 4.

Таблица 4.

Количество клеток, экспрессирующих факторы роста в образцах нейропатических язвенных дефектов с различными морфологическими фенотипами.

Параметр	Морфологические фенотипы		p
	1 вид (n=56)	2 вид (n=33)	
СЭФР, %	81	19	0,0001
СЭФР _p , %	96	4	0,0001
ИФР, %	100	0	0,0001
ИФР _p , %	89	11	0,0001
ЭФР, %	98	2	0,0001
ЭФР _p , %	84	16	0,0001
Общее кол-во клеток, экспрессирующих факторы роста, %	93	7	0,0001
Общее кол-во клеток, экспрессирующих факторы роста, %	90	10	0,0001

Как следует из данных, представлено в таблице 4, в образцах с морфологическим фенотипом 1 количество клеток, экспрессирующих факторы роста и рецепторы к ним была достоверно выше.

В качестве маркеров пролиферации были выбраны ядерный белок Ki 67, гладкомышечный актин (SMA) и цитокератин (СК). Ki 67 экспрессируется в большинстве фаз митотического цикла клетки и является универсальным маркером ее пролиферативной активности. Определение его содержания используется в различных областях медицины, включая онкологию. Нами было выдвинуто предположение, что по уровню экспрессии Ki67 в грануляционной ткани можно оценить репаративный потенциал ран. Согласно полученным данным, язвенные дефекты с морфологическими фенотипами 1 и 2 достоверно отличаются по уровню экспрессии Ki

67 и соответственно пролиферативной активности грануляционной ткани [18 ± 6 vs 4 ± 5 (%), $p=0,0001$; Рисунки 6, 7].

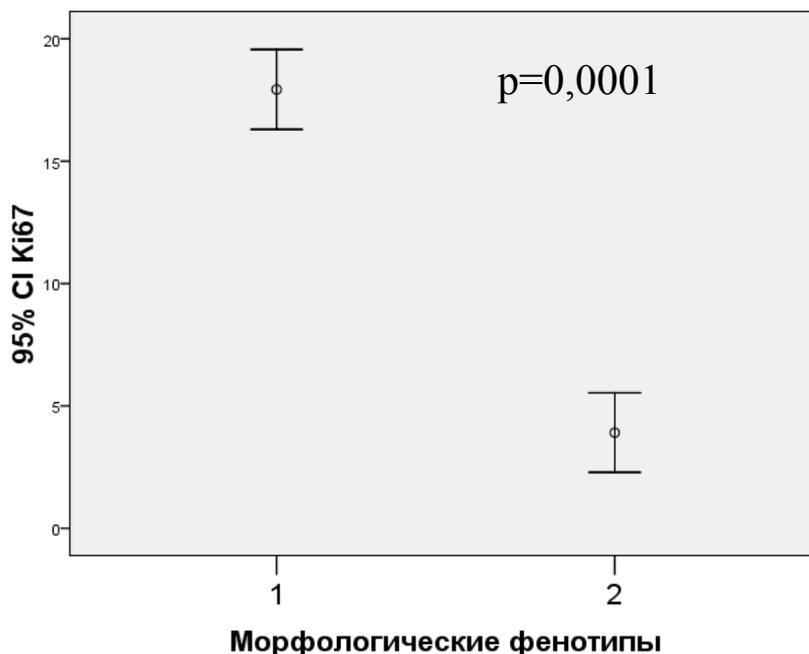


Рисунок 6. Экспрессия ядерного белка Ki67 в грануляционной ткани образцов с разными морфологическими фенотипами.

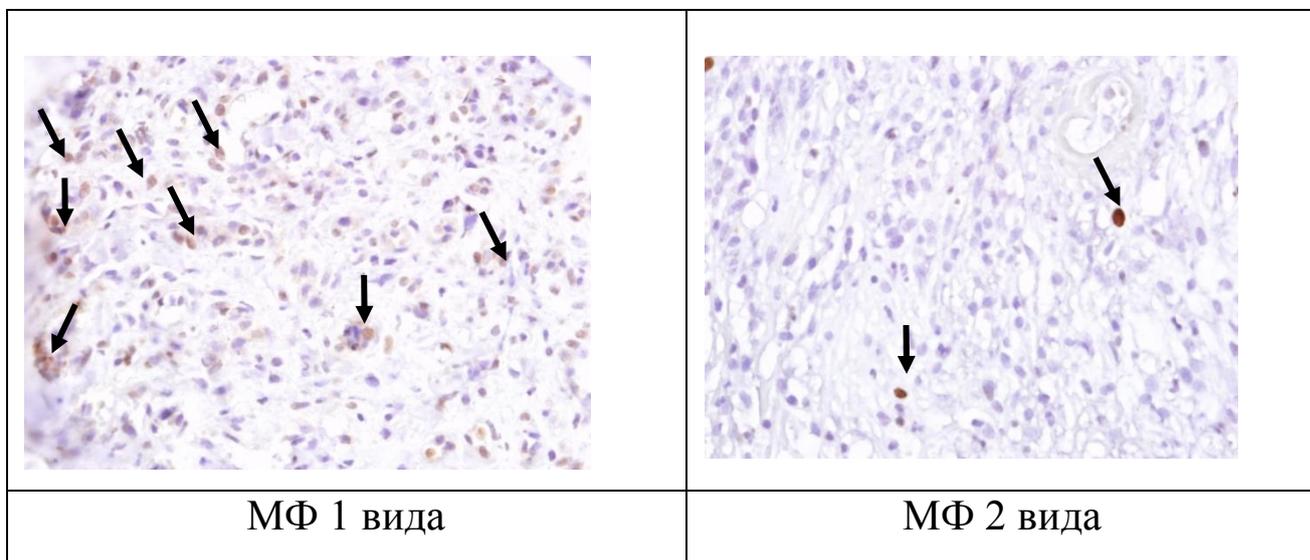


Рисунок 7. Микрофотографии экспрессии Ki 67 в ядрах клеток грануляционной ткани (указаны стрелками) ран с морфологическими фенотипами 1 и 2, увеличение $\times 400$.

Экспрессия ядерного белка Ki67 тесно связана с количеством грануляционной ткани в образце. Коэффициент корреляции Пирсона между этими величинами составляет 0,6 ($p < 0,001$). На диаграмме рассеяния значений (Рисунок 8) показано соотношение наличия

грануляций и Ki67. Следует отметить, что в ряде случаев достаточно высокое содержание грануляций (40-60%) сопровождалось низкими (< 5%) значениями Ki67 (выделены линиями). Можно предположить, что в данном случае речь идет о, так называемой, «вялой» грануляционной ткани, которая имеет низкий репарационный потенциал.

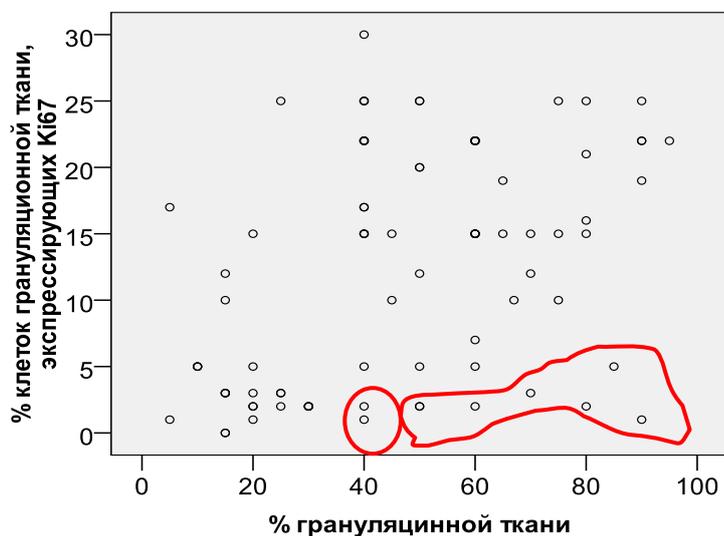


Рисунок 8. Диаграмма рассеяния содержания грануляционной ткани и Ki67.

Гладкомышечный актин (SMA) – это белок, который экспрессируется гладкомышечными клетками и миофибробластами. В свою очередь миофибробласты являются одними из ключевых клеток в заживлении ран. То есть, SMA может служить маркером наличия миофибробластов, непосредственно участвующих в заключительной стадии заживления. Эпителизация завершает заживление раны, что может быть оценено по экспрессии цитокератинов.

Таблица 5

Количество клеток, экспрессирующих гладкомышечный актин (SMA) и панцитокератин (СК) в образцах нейропатических язвенных дефектов с различными морфологическими фенотипами.

Параметр	Морфологические фенотипы		p
	1 вид (n=56)	2 вид (n=33)	
SMA, %	81	19	0,0001
СК, %	85	15	0,0001

Таким образом, язвенные дефекты с разными морфологическими фенотипами достоверно отличались по количеству клеток, экспрессирующих гладкомышечный актин и панцитокератин (Таблица 5).

Оценивалось наличие клеток, экспрессирующих маркеры стволовых клеток CD34 и альдегиддегидрогеназы 1 типа (ALDH1). Альдегиддегидрогеназы (ALDH) представляют собой семейство внутриклеточных энзимов, в функции которых, помимо окисления альдегидов входит защита стволовых клеток от окислительного стресса. В этой связи, уровень экспрессии ALDH1 используется в качестве маркера наличия стволовых клеток при различных онкологических заболеваниях. CD 34 - трансмембранный фосфогликопротеин, который экспрессируется на гематопоэтических стволовых клетках, обладающих в том числе и проангиогенной активностью. Определение уровня экспрессии ALDH1 и CD 34 используется в лабораторной практике в основном при диагностике и дифференциальной диагностике различных онкологических заболеваний. В нашей работе было выдвинуто предположение о том, что наличие в хронических ранах клеток, экспрессирующих маркеры стволовых клеток может оказывать положительное влияние на течение процесса заживления.

Таблица 6

Количество клеток, экспрессирующих ALDH1 и CD 34 в образцах нейропатических язвенных дефектов с различными морфологическими фенотипами.

Параметр	Морфологические фенотипы		p
	1 вид (n=56)	2 вид (n=33)	
ALDH1, %	81	19	0,0001
CD 34,%	75	25	0,0001

Образцы ран с МФ1 вида имели достоверно большее количество клеток, экспрессирующих маркеры стволовых клеток.

При сравнительном анализе клинических характеристик пациентов с разными морфологическими фенотипами значимая разница получена в отношении своевременности обращения пациентов за специализированной помощью и характера случая возникновения хронической раны. Пациенты с язвенными дефектами,

принадлежащими к МФ 1 вида, обращались достоверно раньше. Раны послеоперационной этиологии достоверно чаще имели МФ 1 вида. По таким клиническим параметрам, как возраст, пол, тип СД, длительность и уровень контроля основного заболевания, степень выраженности нейропатии, локализация поражения различий между группами не выявлено.

По скорости сокращения площади поражения за 4 недели лечения в специализированном отделении диабетической стопы язвенные дефекты были разделены на 4 группы: 1- > 50 %; 2- 30-49%; 3- 10-29%; 4- < 10%. Язвенные дефекты пациентов с низкой скоростью заживления (< 10%) в достоверно большем проценте случаев принадлежали к МФ2 вида и не заживали в результате консервативных мероприятий [6% vs 88,9%, $p = 0,0001$ (таблица 7)].

Таблица 7.

Распределение язвенных дефектов с морфологическими фенотипами разных видов в зависимости от скорости сокращения их площади за 4 недели лечения.

Скорость сокращения площади язвенного дефекта за 4 недели	Морфологические фенотипы		p
	1 вид (n,%)	2 вид (n,%)	
> 50%	11 (20 %)	0 (0%)	0,0001
30-49 (%)	21 (38%)	1 (3,7%)	
10-29%	20 (36,0%)	3 (7,4%)	
< 10%	6 (6,0%)	29 (88,9%)	

Для выявления факторов, определяющих вероятность заживления раны в условиях одновременного влияния множества переменных был применен метод «дерева решений». Данный метод позволяет построить модель, учитывающую влияние различных параметров на конкретное событие (в данном случае – заживление раны) и выбрать фактор или факторы, которые значимо влияют на вероятность его наступления. При построении модели в качестве переменных, возможно оказывающих влияние на заживление раны, были выбраны морфологические характеристики биоптата, иммуногистохимические показатели, включая уровень экспрессии Ki67 (%).

Согласно построенной модели, ключевым параметром заживления хронической раны при СДС является уровень экспрессии

Ki67. По выявленному показателю возможны два варианта развития событий:

1. Уровень экспрессии Ki 67 $\leq 7\%$ [n= 34 (38,2%)]. В таком случае вероятность заживления низкая, составляет 11,8%, а отсутствия заживления - высокая (88,2 %).

2. Уровень экспрессии Ki67 $> 7\%$ [n=55 (61,8%)]. В этом случае вероятность заживления очень высока и составляет 94,5 %, а отсутствия заживления- 5,5%.

По срокам заживления образцы исследуемой выборки были разделены на три группы язвенных дефектов : группа 1- зажившие за 3 месяца (n=14), группа 2- зажившие в течение 12 месяцев (n=36), группа 3- зажившие в срок, превышающий 12 месяцев (n=6).

Параметром, определяющим высокую вероятность заживления раны за 3 месяца является уровень экспрессии CD 34. Если его в биоптате нет, вероятность заживления хронической раны за 3 месяца отсутствует, заживления в пределах 12 месяцев и более -50%. При наличии CD 34 в биоптате прогноз зависит от уровня экспрессии ядерного белка Ki67. Если он меньше или равен 10%, то вероятность заживления за 3 месяца отсутствует. В такой ситуации все раны заживают за период от 3-х до 12 месяцев. При уровне экспрессии Ki67 более 10% вероятность заживления за 3 месяца составляет 42,4 %, а в пределах от 3-х до 12 месяцев - 57,6%.

Таким образом, в процессе исследования образцов сопоставимых по своим клиническим характеристикам, идентифицировано два морфологических фенотипа, характеризующихся разным репарационным потенциалом и имеющих различную вероятность заживления в результате консервативных мероприятий. Заживление и его сроки зависят от уровня экспрессии CD34, обладающего проангиогенной активностью, и ядерного белка Ki67.

В клинической практике для ускорения процесса эпителизации длительно незаживающих язвенных дефектов могут применяться различные дополнительные средства для местного лечения, в частности, содержащие факторы роста. Данные об эффективности применения факторов роста у больных с СДС противоречивы. Для оценки эффективности применения этого вида лечения у больных с СДС в амбулаторной практике были проведены клинические исследования воздействия на язвенный дефект аппликаций

аутоплазмы, обогащенной факторами роста, и внутривенных инъекций эпидермального фактора роста.

Оценка эффективности аппликаций аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, на заживление язвенных дефектов при СДС

Применение богатой тромбоцитами собственной плазмы пациента (platelet-rich plasma-PRP) в качестве местного лечения язвенных дефектов основано на предположении о том, что факторы роста, содержащиеся в α -гранулах тромбоцитов, могут стимулировать процессы репарации и тем самым ускорять заживление хронических ран. Все пациенты, включенные в анализ, обратились за амбулаторной помощью в отделение диабетической стопы БУЗ "Эндокринологический диспансер Департамента здравоохранения города Москвы" по поводу длительно незаживающих язвенных дефектов стоп. Все пациенты получали лечение в амбулаторных условиях, согласно международным стандартам оказания помощи пациентам с синдромом диабетической стопы. Части пациентов в дополнение к стандартному лечению на язвенные дефекты наносился гель с аутоплазмой, обогащенной тромбоцитами 1 раз в неделю. Согласно критериям включения, показаниями к назначению дополнительного лечения являлась скорость снижения размеров язвенного дефекта менее, чем на 50% за 4 недели.

В исследовании приняли участие 80 пациентов, которые были разделены на две группы: группа 1 (n=39) у которой к стандартному лечению добавляли аппликации аутоплазмы, обогащенной собственными факторами роста, группа 2 (n= 41), получавшая только стандартное лечение. Обе группы были сопоставимы по базовым клиническим характеристикам.

Раны, включенные в анализ, были стратифицированы на следующие подгруппы в зависимости от скорости сокращения площади раны за 4 недели лечебных мероприятий (Таблица 8): группа 1 (30-49%); группа 2(10-29%); группа 3 (< 10%).

Таблица 8.

Распределение язвенных дефектов в зависимости от скорости сокращения размеров за 4 недели лечения

Скорость сокращения размеров за 4 недели	Аутоплазма (n=39)	Стандартная терапия (n=41)	p
30-49%	13 (33,3%)	15 (34,9%)	0,57
10-29%	8 (20,5%)	14 (32,6%)	0,12
< 10%	18 (46,2%)	14 (32,6%)	0,13

Аппликации аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, назначались в течение 8 недель или меньше, если заживление раны происходило раньше.

Оценка эффективности. Первичной конечной точкой было количество заживших и незаживших язвенных дефектов за период наблюдения. Заживлением считалась полная эпителизация язвенного дефекта без рецидивов в течение 4-х недель. Вторичные конечные точки были разделены на относящиеся непосредственно к язвенному дефекту и относящиеся к пациенту.

По полученным результатам количество заживших язвенных дефектов за период наблюдения было сопоставимо в обеих группах. Количество язвенных дефектов заживших за 3 месяца, 6 месяца и за год также как и сроки заживления не отличалось в обеих группах (Таблица 9). Количество инфицированных язвенных дефектов было сопоставимым в обеих группах. За время наблюдения ампутаций в пределах стопы и выше голеностопного сустава не было в обеих группах

Таким образом, в проведенном сравнительном исследовании, данных о преимуществе добавления аппликаций аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами к стандартному лечению перед стандартной терапией, не получено. В процессе анализа были получены данные о разном ответе язвенных дефектов как на аппликации аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, так и стандартную терапию. В подавляющем большинстве случаев, язвенные дефекты со скоростью сокращения площади раны за 4 недели лечебных мероприятий < 10% не зажили за период наблюдения в обеих группах [плазма 78% vs стандарт 93%, p=0,26],

тогда как язвенные дефекты со скоростью сокращения площади раны более 10% эпителизировались [плазма 89% vs стандарт 93%, $p=0,43$].

Таблица 9.

Результаты применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в местном лечении язвенных дефектов у больных с синдромом диабетической стопы.

Параметр	Аутоплазма (n= 39)	Стандартная терапия (n=41)	p
Количество заживших язвенных дефектов за период наблюдения	21 (53,8%)	26 (65,1%)	0,3
Количество язвенных дефектов, заживших за 3 месяца	3 (14,3%)	6 (21,4%)	0,4
Количество язвенных дефектов, заживших за 6 месяцев	9 (42,9%)	13 (46,4%)	0,52
Количество язвенных дефектов, заживших за 12 месяцев	4 (19%)	5 (18%)	0,6
Среднее количество дней до заживления	176 [102; 375]	133 [91; 234]	0,7

Данные представлены как абсолютное число и процентное соотношение (n,%), медиана и квартили [Q25; Q 75].

Оценка эффективности внутрираневых инъекций эпидермального фактора роста на заживление язвенных дефектов при СДС

В 3-х медицинских учреждениях Москвы было проведено проспективное, открытое, многоцентровое, предрегистрационное клиническое исследование по оценке эффективности и безопасности лекарственного препарата Эберпрот-П® [эпидермальный фактор роста человеческий рекомбинантный (ЭФР)] для терапии язв стоп у пациентов с СД (протокол № Е-2011/01- RU). Эберпрот-П®

(производство Центра Генной Инженерии и Биотехнологии, Республика Куба, РУ № ЛП-002375 от 17.02.2014 года) представляет собой лиофилизированный порошок, содержащий 75 мкг рекомбинантного человеческого ЭФР. Основной первичной задачей исследования была оценка влияния препарата на формирование грануляционной ткани в трофических язвах стоп у пациентов с СД. Полным ответом на терапию считалось формирование грануляционной ткани, покрывающей > 75% всей площади язвенного дефекта. Кроме того, изучалось влияние Эберпрота- П® на возможность полного заживления язвенных дефектов при СДС, определялась частота ампутаций нижних конечностей у пациентов с язвенными дефектами при СДС, получавших терапию Эберпротом- П®; оценивалась безопасность его применения. Препарат вводился три раза в неделю в течении 8 недель (24 визита).

В данном разделе представлены результаты субанализа эффективности применения препарата Эберпрот-П® в комплексном лечении больных с СДС, в амбулаторном режиме. Язвенные дефекты у пациентов, включенных в исследование, существовали больше года, были небольшого размера и глубины. В исследуемой подгруппе понадобилось проведение всех визитов, при этом, динамика изменения площади ран была выражена незначительно

Для объяснения полученных результатов был проведен дополнительный морфологический анализ образцов язвенных дефектов. После окончания исследования 10 пациентов дали свое согласие на проведение морфологического исследования язвенных дефектов. Морфологический анализ включал в себя: гистологическое исследование образцов (соотношение грануляций, некроза и фиброза в ранах); пролиферативную активность грануляционной ткани (определение маркера пролиферации -ядерного белка Ki67); экспрессию ЭФР и рецепторов к нему (Таблица 10).

Таблица 10.

Результаты морфологического анализа образцов язвенных дефектов пациентов, получавших амбулаторное лечение препаратом Эберпрот- П®

Количество образцов	10
Относительное содержание грануляционной ткани (%)	33 ± 17
Относительное содержание некротической ткани (%)	13 ± 6
Относительное содержание фиброзной ткани (%)	54 ± 16
Ki 67 (%)	4,88 ± 4,45
ЭФР (%)	0,25 ± 0,71
ЭФР _p (%)	0

Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение (m±SD).

Согласно полученным данным в исследуемых язвенных дефектах преобладала фиброзная ткань, содержание которой превышало 50%. Фиброзная ткань является разновидностью соединительной ткани и не склонна к репаративной клеточной регенерации. При этом, количество грануляций в пролеченных ранах в среднем незначительно превышало 30%, а индекс пролиферации по Ki67 был невысок, составив в среднем 5%.

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод, что применение в амбулаторной практике ЭФР у пациентов с длительно незаживающими хроническими ранами не целесообразно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время тактика ведения язвенных дефектов при СДС во многом зависит от состояния магистрального кровотока, наличия признаков инфекции (местной или общей) и локализации поражения. Контроль этих факторов лежит в основе лечебных мероприятий данной патологии как на стационарном, так и амбулаторном этапах медицинской помощи. Проведенный когортный анализ ведения 503 язвенных дефектов при СДС продемонстрировал высокую эффективность специализированной медицинской помощи данной категории больных на амбулаторном этапе. Заживление без выполнения высоких и малых ампутаций в общей когорте пациентов

с СДС достигнуто в 80,7% (406 случаев). Предикторами отсутствия заживления при нейропатической форме СДС были несвоевременное обращение за специализированной медицинской помощью и размер поражения более 1 см². Средние сроки заживления составили 134 дня (93; 178). В 49% случаев эпителизация наступала в течение 3-х месяцев; в 46,4 % случаев - в течение 12 месяцев; 4,6% язвенных дефектов не заживали за год и более. На сроки заживления нейропатических язвенных дефектов оказывают влияние своевременность обращения за специализированной медицинской помощью ($p=0,0132$), размер раны до 1 см² ($p=0,04$), глубина поражения по классификации Вагнера ($p=0,0001$). Большинство язвенных дефектов у обратившихся пациентов протекает на фоне адекватного магистрального кровотока (67%). Доля высоких ампутаций в этой когорте (нейропатическая форма СДС) была достаточно низкой - 1,8%. Риск выполнения высоких ампутаций у пациентов с ишемией конечности (нейро-ишемическая форма СДС) возрастал в 3,2 раза с увеличением возраста на каждые 10 лет; в 7,5 раз при увеличении глубины поражения тканей на каждую степень по классификации Вагнера и в 1,7 раза при увеличении уровня HbA1c на 1%.

Для решения вопроса лечения длительно незаживающих язвенных дефектов без признаков инфекции на фоне адекватного магистрального кровотока в пораженной конечности предложена новая концепция персонализации лечебной тактики, основанная на морфологических особенностях хронических раневых дефектов. Согласно полученным данным, заживление язвенного дефекта и его скорость зависят от пролиферативной активности грануляционной ткани, определяемой по уровню экспрессии ядерного белка Ki67 и наличию в ране клеток, экспрессирующих маркеры стволовых клеток (CD34 и ALDH1). В процессе исследования было идентифицировано два морфологических фенотипа (МФ) ран, различающихся по указанным параметрам. МФ 1 вида характеризуется высоким репарационным потенциалом ран [коэффициент репарации (КР)- $2,29 \pm 3,04$]; высокой пролиферативной активностью грануляционной ткани по уровню экспрессии Ki67 (18 ± 6), наличию в образцах клеток, обладающих функциями стволовых. При МФ 2 вида отмечен низкий репарационный потенциал [коэффициент репарации (КР) - $0,95 \pm 1,78$]; невысокая пролиферативная активность грануляционной

ткани по уровню экспрессии Ki67 [4 ± 5 (%)] и отсутствие, либо наличие в следовых количествах в биоптате клеток, обладающих функцией стволовых. Кроме того, МФ 1 и 2 вида различались по уровню экспрессии факторов роста и рецепторов к ним. В образцах с МФ 2 вида экспрессия факторов роста и рецепторов к ним отсутствует, либо находится на крайне низком уровне, тогда как в образцах с МФ 1 вида их экспрессия значимо выше.

Выявлены достоверные различия между больными с МФ 1 и 2 видов по длительности существования раны до обращения за специализированной помощью [33 (10;67) vs 98 (5; 378) дней, $p=0,0001$], скорости сокращения площади раны за 4 недели лечебных процедур [40% (27%; 55%) vs 3,7% (2%; 5%), $p=0,0001$] и долей послеоперационных ран [79,4% vs 20,6 %, $p=0,014$]. Согласно полученным данным в длительно существующих ранах есть признаки истощения пролиферативных процессов, определяемых по КР и экспрессии ядерного белка Ki67. Это приводит к дифференцировке фибробластов в фиброциты с последующим развитием фиброзной ткани.

Учитывая патоморфологические особенности нейропатических язвенных дефектов при СДС, можно сделать заключение о соответствующих отличиях в исходах лечения язвенных дефектов с разными морфологическими фенотипами.

Оптимальным методом идентификации морфологического фенотипа является морфологическое исследование образца с определением КР и уровня экспрессии ядерного белка Ki67. К дополнительным маркерам можно отнести длительность существования раны до обращения за специализированной помощью, скорость сокращения площади раны после 4-х недель лечения, послеоперационный раневой дефект. Консервативные виды лечения язвенных дефектов с МФ 2 вида продемонстрировали свою неэффективность. В связи с этим, таких пациентов необходимо курировать совместно с хирургами. Ввиду того, что речь идет о пациентах с адекватным магистральным кровотоком, то объем и вид хирургического вмешательства должны определяться в рамках работы междисциплинарной команды, в состав которой входят ортопеды и пластические хирурги. Язвенные дефекты, принадлежащие к МФ 1 вида, заживают в результате консервативных мероприятий с разной скоростью. Согласно нашим данным, наличие

в ране клеток, экспрессирующих один из маркеров стволовых клеток CD 34, влияет на скорость заживления хронических язвенных дефектов при СДС. CD 34 является маркером как предшественников, так и самих эндотелиальных клеток кровеносных сосудов и способствует ангиогенезу. При наличии этих клеток в биоптате, язвенные дефекты в 32% случаев заживали в течение 3-х месяцев, в 68% - в течение года. При их отсутствии не отмечено случаев заживления в течение 3-х месяцев, в 50% случаев раны заживали в течение года, в 50% - не заживали.

На основании полученных данных предложена модификация алгоритма ведения пациентов с язвенными дефектами при СДС. При обращении пациента с СДС назначается лечение согласно стандартам оказания медицинской помощи. Через 4 недели оценивается его эффективность по площади сокращения раны. Если размеры уменьшаются более, чем на 50% от первоначальной площади, то рекомендовано продолжить проводимой лечение. Если площадь сокращения меньше или равна 50%, то для определения дальнейшей лечебной тактики пациентам с язвенными дефектами при нейропатической форме СДС и без признаков инфицирования определяется морфологический фенотип по соотношению грануляционной ткани к фиброзу и некрозу с вычислением коэффициента репарации и уровню экспрессии ядерного белка Ki67. В зависимости от полученных результатов, будет рекомендовано продолжение консервативного лечения, либо хирургическое вмешательство в рамках междисциплинарного взаимодействия (Рисунок 9).



Рисунок 9. Алгоритм персонализации лечебных мероприятий при хронических длительно незаживающих язвенных дефектах у больных

Выводы

1. У больных с хроническими ранами нижних конечностей при синдроме диабетической стопы, получающих специализированную помощь в амбулаторных условиях, нейропатическая форма синдрома диабетической стопы диагностирована в 67% случаев, нейроишемическая в 33%. Заживление язвенных дефектов происходило в 80,7 % случаев. Выполнения ампутаций потребовалось в 6,4% случаях, из которых 4,6% - в пределах стопы, 0,6% - на уровне голени, 1,2% - на уровне бедра.

2. У пациентов с признаками нарушения магистрального кровотока нижних конечностей риск выполнения высокой ампутации увеличивается в 1,7 раза при возрастании уровня HbA1c на 1%; в 3,2 раза - с увеличением возраста на каждые 10 лет; в 7,5 раз при увеличении глубины поражения мягких тканей на каждую степень по классификации Вагнера.

3. Идентифицировано два вида морфологических фенотипов тканей язвенных дефектов у пациентов с неинфицированной нейропатической формой синдрома диабетической стопы, различающихся по своему репарационному потенциалу. Морфологический фенотип 1 вида характеризуется преобладанием грануляционной ткани над фиброзом и некрозом. При морфологическом фенотипе 2 вида отмечается преобладание фиброза и некроза над грануляционной тканью. Средние значения коэффициента репарации при морфологическом фенотипе 1 вида в 2,4 раза выше, чем при морфологическом фенотипе 2 вида ($2,29 \pm 3,04$ vs $0,95 \pm 1,78$, $p=0.0001$). На фоне проводимого консервативного лечения язвенные дефекты, относящиеся к морфологическому фенотипу 1 вида, заживали в среднем в течение 133 дней (88; 218), а ко 2 виду - не заживали в течение года.

4. У больных с ранами морфологического фенотипа 1 вида длительность существования язвенных дефектов до обращения за специализированной помощью была в 3 раза меньше, чем у больных с морфологическим фенотипом 2 вида [33 (10; 67) vs 98 (5; 378) дней, $p < 0,001$]. В этой подгруппе доля пациентов со скоростью сокращения площади раны $> 30\%$ за 4 недели лечения была в 16 раз больше (58% vs $3,7\%$, $p < 0,0001$); количество послеоперационных ран было выше в 4 раза ($79,4\%$ vs $20,6\%$, $p < 0,02$).

5. Молекулярные профили хронических язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы, принадлежащих к разным морфологическим фенотипам значительно отличались по количеству клеток, экспрессирующих Ki67 [18 ± 6 (%) vs 4 ± 5 (%)], факторы роста (93% vs 7%, $p=0,0001$) и рецепторы к ним (90% vs 10%, $p=0,0001$), гладкомышечный актин (81% vs 19%), панцитокератин (85% vs 15%), маркеры стволовых клеток: CD 34 (75% vs 25%) и ALDH1 (81% vs 19%). Это указывает на различный репарационный потенциал язвенных дефектов, который определяет вероятность заживления и его сроки.

6. Наибольшую диагностическую ценность в оценке вероятности заживления язвенного дефекта на фоне консервативного лечения показал уровень экспрессии Ki 67 в биоптатах ран: при его величине $> 7\%$ вероятность заживления составила 94,5%, $\leq 7\%$ - 11,8%. Параметром, определяющим вероятность заживления раны за 3 месяца, является уровень экспрессии CD 34: при его отсутствии вероятность заживления раны за 3 месяца была равна 0, а при его наличии составила 32 %.

7. Использование в амбулаторной практике эпидермального фактора роста (в виде внутрираневого инъекций) и собственной плазмы, обогащенной факторами роста (в виде аппликаций) в местной терапии хронических язвенных дефектов у пациентов с длительно незаживающими язвенными дефектами не продемонстрировало клинических преимуществ по сравнению со стандартной терапией.

Практические рекомендации

Для персонализации ведения пациентов с синдромом диабетической стопы целесообразно выполнять комплексную оценку клинико-морфологических параметров язвенных дефектов, гистологические и иммуногистохимическое исследование биоптатов хронических язвенных дефектов с идентификацией морфологического фенотипа.

Клинико-морфологическую оценку состояния хронической раны рекомендовано выполнять пациентам с адекватным магистральным кровотоком, без признаков инфекции, при обязательном соблюдении терапевтических стандартов лечения, включая режим разгрузки пораженной конечности.

Для идентификации вида морфологического фенотипа рекомендовано выполнять морфометрию образца с вычислением коэффициента репарации и уровня экспрессии ядерного белка Ki67. При значениях $KP > 1$ и экспрессии $Ki67 > 7\%$ язвенный дефект относится к МФ 1 вида; при значениях $KP \leq 1$ и экспрессии $Ki67 \leq 7\%$ язвенный дефект относится к МФ 2 вида.

К дополнительным клиническим параметрам идентификации морфологического фенотипа хронических ран при синдроме диабетической стопы относятся: длительность существования раны до обращения за специализированной помощью и скорость ее сокращения раны за 4 недели лечения.

На основании выявленных морфологических фенотипов целесообразно использовать дополнительный алгоритм терапии больных с синдромом диабетической стопы (на догоспитальном этапе), позволяющий персонализировать лечебные мероприятия. В качестве основных маркеров дифференцированного подхода рекомендуется использовать определение коэффициента репарации и экспрессии в биоптате раны ядерного белка Ki 67. В роли дополнительных маркеров могут применяться скорость сокращения площади раны за 4 недели лечебных мероприятий и длительность существования язвенного дефекта до обращения за специализированной медицинской помощью.

Пациентам с МФ 1 показана консервативная стандартная терапия. Пациенты с МФ 2 вида должны быть проконсультированы хирургом (ортопедом, пластическим) в максимально короткие сроки в рамках междисциплинарного взаимодействия с целью выработки наиболее эффективного подхода.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

- 1. Комелягина Е.Ю. Факторы риска и профилактика синдрома диабетической стопы/ Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.// РМЖ- 2003- Т.11.- №27.- С.1514-1518. 4/2с. ИФ 0,386.**
- 2. Комелягина Е.Ю. Поражения нижних конечностей у больных сахарным диабетом/ Комелягина Е.Ю., Волковой А.К., Анциферов М.Б.// РМЖ- 2007- Т.3- С.7-11. 4/1,3с. ИФ 0,386.**
- 3. Комелягина Е.Ю. Синдром диабетической стопы: патогенез, диагностика, современные подходы к терапии/ Комелягина Е.Ю.,**

Волковой А.К., Анциферов М.Б.// Врач- 2009- Т.5-С.6-9. 3/1с. ИФ 0,539.

4.Комелягина Е.Ю. Русскоязычная версия опросника для оценки качества жизни больных с периферической полинейропатией: валидация и перспективы применения/ Комелягина Е.Ю., Уварова О.М., Анциферов М.Б.// Сахарный диабет 2014- Т.2-С.56-65. 9/3 с. ИФ 2,589.

5. Комелягина Е.Ю. Поражения нижних конечностей у больных сахарным диабетом/ Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.// Доктор.ру - 2014- Т.12 - С.46-51. 5/2,5с. ИФ 0,652.

6. Комелягина Е.Ю. Синдром диабетической стопы: современные направления в лечении и профилактике/ Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.// РМЖ- 2015- Т.13.- №6.-С.367-371. 4/2с. ИФ 0,386.

7. Комелягина Е.Ю. Клинико- морфологические параметры и маркеры репарации нейропатических язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы / Комелягина Е.Ю., Коган Е.А., Анциферов М.Б.// Сахарный диабет- 2015- Т.18.-№3 -С.70-77. 7/3,5с. ИФ 2,589.

8. Комелягина Е.Ю. Факторы, влияющие на заживление язвенных дефектов и его сроки при синдроме диабетической стопы / Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б. Волковой А.К., Сабанчиева Н.И., Зайчикова М.Ф., Максимов Н.В., Уварова О.М.// Эндокринология: новости, мнения, обучение – 2016- Т.1.- №14. - С.73-81. 8/1,3. ИФ 0,411.

9. Комелягина Е.Ю. Междисциплинарный подход к ведению больных с синдромом диабетической стопы в амбулаторной практике / Комелягина Е.Ю., Волковой А.К., Сабанчиева Н.И., Зайчикова М.Ф., Максимов Н.В., Анциферов М.Б.// Клиническая медицина - 2016- Т.94.-№2.- С.127-132. 5/2,5с. ИФ 0,472.

10. Комелягина Е.Ю. Оценка микробного состава хронических язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы / Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б., Попова В.М., Жиленков Е.Л., Юскевич В.В.// Эндокринология: новости, мнения, обучение – 2017- Т.3 - С.71-77. 6/23. ИФ 0,411.

11. Комелягина Е.Ю. Оценка клинико- морфологических особенностей заживления язвенных дефектов при синдроме

- диабетической стопы / Комелягина Е.Ю., Коган Е.А., Анциферов М.Б.// Сахарный диабет- 2017- Т.20.-№2 -С.135-141. 6/3с. ИФ 2,589.
12. Комелягина Е.Ю. Синдром диабетической стопы: междисциплинарный подход к ведению больных/ Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.// Эндокринология: новости, мнения, обучение – 2017- Т.7 - С.26-32. 6/3. ИФ 0,411.
13. Комелягина Е.Ю. Факторы роста в терапии язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы / Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.// Сахарный диабет- 2019- Т.22.-№4. - С.377- 38. 6/3с. ИФ 2,589.
14. Комелягина Е.Ю. Особенности заживления ран у больных с синдромом диабетической стопы / Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б. // Эндокринология: новости, мнения, обучение – 2018- Т.7.- № 4.- С.42-47. 5/2,5. ИФ 0,411.
15. Комелягина Е.Ю. Синдром диабетической стопы: результаты лечения в амбулаторных условиях специализированного/ Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б. Волковой А.К., Сабанчиева Н.И., Ковылов А.О., Максимов Н.В.// Хирург – 2019- Т.8.-№170- С.50 -57. 7/1,16. ИФ 0,137.
16. Комелягина Е.Ю. Факторы роста в терапии язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы / Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.// Сахарный диабет- 2019- Т.22.-№4 - С.377- 383. 6/3с. ИФ 2,589.
17. Комелягина Е.Ю. Клиническая характеристика и исходы длительно незаживающих ран у больных с синдромом диабетической стопы: ретроспективное когортное исследование / Комелягина Е.Ю., Анциферов.// Эндокринология: новости, мнения, обучение – 2020- Т.9.-№3.- С.21-25. 4/2. ИФ 0,411.
18. Комелягина Е.Ю. Способ определения прогноза заживления раневого дефекта при синдроме диабетической стопы/ Комелягина Е.Ю., Коган Е.А.Анциферов М.Б., Аметов А.С.// Патент РФ № 274 2760 от 10.02.21 г., приоритетное право на изобретение от 10.07.2020 г.).
19. Комелягина Е.Ю. Способ персонификации терапии язвенного дефекта при синдроме диабетической стопы/Комелягина Е.Ю., Коган Е.А., Анциферов М.Б., Аметов А.С.// Патент РФ № 2785531 от 08.12.2022 г.).

20. Комелягина Е.Ю. Синдром диабетической стопы/Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.//научное издание, "Миа" Москва, 303 с., 2013 г.
21. Комелягина Е.Ю. Синдром диабетической стопы: местная терапия язвенных дефектов/ Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б.// Рецензируемое методическое руководство для врачей № 92, Москва, 2018 г.
22. Комелягина Е.Ю. Особенности местного лечения хронических ран при синдроме диабетической стопы /Комелягина Е.Ю., Анциферов М.Б. // Методическое руководство для медсестер, Москва, 2019 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИИ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ИРП - индивидуальная разгружающая повязка
 ИФР- инсулиноподобный фактор роста
 ИФР_p - рецепторы к инсулиноподобному фактору роста
 КИ- критическая ишемия
 КР- коэффициент репарации
 ЛПИ - лодыжечно-плечевой индекс
 ММП - матриксные металлопротеиназы
 НДС - нейропатический дисфункциональный счет
 ОШ- отношение шансов
 СД- сахарный диабет
 СДС- синдром диабетической стопы
 СДСн- синдром диабетической стопы, нейропатическая форма
 СДСни- синдром диабетической стопы, нейро-ишемическая форма
 СЭФР-сосудистый эндотелиальный фактор роста
 СЭФР_p- рецепторы к сосудистому эндотелиальному фактору роста
 ФР- факторы роста
 ЭФР- эпидермальный фактор роста
 ЭФР_p- рецепторы к эпидермальному фактору роста
 ALDH1- альдегиддегидрогеназа 1 типа
 СК- цитокератин
 HbA1c- гликированный гемоглобин
 SMA- гладкомышечный актин
 TcPO₂- транскутанная оксиметрия

