

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДОНЕЦКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
М.ГОРЬКОГО» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЛУЦЕНКО ЮРИЙ ГРИГОРЬЕВИЧ

**ОБОСНОВАНИЕ ТАКТИКИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ
БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ С ЯЗВЕННО – НЕКРОТИЧЕСКИМИ
ПОРАЖЕНИЯМИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

3.1.9 – Хирургия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
Гринцов Александр Григорьевич,
доктор медицинских наук, профессор

Донецк - 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. Современные аспекты этиопатогенеза и лечения диабетических язв стопы (обзор литературы).....	16
1.1. Процесс эпителизации язв при сахарном диабете.....	20
1.2.Лечение диабетических язв стопы.....	23
1.3.Лечение диабетической ангиопатии	25
1.4. Физические методы воздействия при лечении диабетических язв.....	29
1.5. Подходы к тканевой инженерии	33
1.6. Роль факторов роста и провоспалительных цитокинов в патогенезе раневого процесса.....	36
1.7. Возможности прогнозирования в медицинской практике.....	46
Глава 2. Материал и методы исследования.....	54
2.1. Дизайн исследования.....	54
2.2. Материал исследования.....	55
2.3. Методы исследования.....	65
Глава 3. Морфология ран стопы у пациентов с СДС при использовании различных программ лечения.....	73
Глава 4. Некоторые аспекты реконструктивно-восстановительных операций на сосудах нижних конечностей у больных сахарным диабетом.....	96
Глава 5. Особенности сердечно-сосудистых и почечных поражений у обследованных больных с СДС.....	105
5.1.Синдром диабетической стопы, ишемическая болезнь сердца и гиперлипидемия.....	106
5.2. Синдром диабетической стопы и артериальная гипертензия, фибрилляция предсердий и хроническая сердечная недостаточность.....	113

5.3. Синдром диабетической стопы и диабетическая нефропатия	118
Глава 6. Клинико-патофизиологические особенности репарации язв при синдроме диабетической стопы.....	123
6.1. Факторы роста и репарация раневых дефектов при синдроме диабетической стопы	123
6.2. Цитокины и репарация раневых дефектов при синдроме диабетической стопы	133
6.3. Корреляционный анализ зависимости факторов роста VEGFA, PDGF-BB и TGF-1 β от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС	145
Глава 7. Прогнозирование исхода лечения у больных сахарным диабетом с язвенно-некротическими поражениями нижних конечностей	155
7.1. Нейросетевая модель прогнозирования послеоперационных осложнений диабетических язв стопы	155
7.2. Математическое прогнозирование исходов лечения у больных с СДС....	162
7.3. Прогнозирование показателя «Степень поражения по Вагнеру».....	183
7.4. Прогнозирование вероятности заживления диабетических язв в зависимости от методов физического воздействия у больных с СДС.....	188
Глава 8. Результаты лечебной тактики с учетом прогноза исхода лечения и оценка ее эффективности у больных с СДС.....	198
Обобщение и анализ полученных результатов.....	223
Выводы.....	268
Практические рекомендации.....	272
Список условных сокращений.....	274
Список используемой литературы.....	276

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В настоящее время, по оценкам Международной федерации диабета, распространенность сахарного диабета (СД) во всем мире составляет 8,3%. Согласно прогнозам к 2030 году число страдающих взрослых в популяции увеличится на 69%, а к концу 2045 года достигнет 700,2 млн (Абдуллаев Р.Н., 2021; Armstrong D.G. et al., 2017). Наиболее частое осложнение СД – синдром диабетической стопы (СДС), которым страдает от 9,1 до 26,1 миллионов человек во всем мире (Мустаева А.С., 2021). Общая численность пациентов с СД в РФ, состоящих на диспансерном учете, на 01.11.2021г., по данным регистра, составила 4 799 552 человек (3,23% населения РФ), из них: СД1 – 265,4 тыс. (5,5%), СД2 – 4,43 млн. (92,5%), другие типы СД – 99,3 тыс. (2,0%) (Галстян Г.Р., 2018; Давиденко О.П., 2014). В настоящее время частота диабетических язв стопы (ДЯС) регистрируется у 12–18% больных, страдающих СД 2 типа, и у 0,6-2% – СД 1 типа, причем эта величина будет увеличиваться по мере старения населения наряду с увеличением факторов риска развития атеросклеротической окклюзии, таких как курение, ожирение др. Все это требует дополнительных методов лечения ран для адекватного их заживления (Гостищев В.К. с соавт.; 2020, Дедов И.И., 2019; Митиш В.А. с соавт., 2020; Ступин В.А., 2019). Литературные данные свидетельствуют, что в течение трех лет у данной группы больных имеет место в 40% случаях рецидив заболевания, в 12,3% – неполное заживление, а в течение 3 лет примерно 12% пациентам с диабетической стопой выполнена ампутация нижних конечностей (Батюк В.И., Дундаров З.А., Адамович Д.М., 2018).

Патогенез СДС характеризуется гетерогенностью. В основе его лежат следующие факторы: гиперпродукция активных форм кислорода и свободно-радикальное окисление, накопление конечных продуктов метаболизма, микроангиопатия, нарушения местного иммунитета (Михайлов А.Ю. с соавт., 2021; Boulton A.J. et al., 2018).

Актуальным в исследовании патофизиологии СДС является определение скорости формирования грануляционной ткани, неоваскулогенеза, участие факторов роста в тканевой репарации. Особое внимание заслуживает одно из патогенетических звеньев СДС – это нарушение иммунных реакций на фоне гипергликемии. Повышается риск распространения инфекции и нарушаются структурно-функциональные свойства белков с развитием осложнений в виде микроангиопатии (Дедов И.И., 2019; Baltzis D., 2014).

Такие многообразные метаболические нарушения при СД, как инсулинорезистентность, накопление в тканях конечных продуктов гликирования белков и жиров, липотоксичность, глюкозотоксичность, в ассоциации с активацией нейрогуморальных систем (симпатической, ренин-ангиотензин-альдостероновой) и систем провоспалительных и профибротических цитокинов, являются основой формирования и ускоренного прогрессирования эндотелиальной дисфункции, атеросклеротических сосудистых поражений, диабетической кардиомиопатии (Беялова Ф.И., 2021; Небиеридзе Д.В., 2018; Adeva-Andany M.M., 2019). Наконец, недостаточно изученными являются и вопросы медикаментозной органопротекторной терапии у лиц с сочетанием синдрома диабетической стопы с разными макро- и микрососудистыми осложнениями диабета (Mancini G. B. J. et al., 2018). О частом сочетании проявлений диабетической стопы с другими макро- и микрососудистыми осложнениями диабета сообщают многие исследователи (Cosentino F., 2020; Komajda M., 2015; Mancini G. B. J. et al., 2018). В связи с этим изучение характера взаимосвязей между особенностями диабетической стопы и распространенными макро- и микрососудистыми осложнениями СД является весьма актуальным, поскольку позволит повысить качество прогнозирования течения сочетанных

поражений и улучшить тактику лечебных мероприятий (Дедов И.И., 2019; Armstrong D.G. et al., 2017).

Несмотря на определенные успехи и достижения в изучении патогенеза СДС, механизмы репарации при этом заболевании изучены недостаточно (Машкова М.А., 2018; Alavi A. et al., 2014).

Совокупность вышеизложенных факторов дала возможность изучить патофизиологические звенья раневого процесса у больных с СДС, выявить корреляционную связь между факторами роста, цитокинами и различными видами лечебных программ, создать математическую прогностическую модель послеоперационных осложнений и исхода лечения.

Степень разработанности проблемы

Разработка и научное обоснование современных подходов к лечению ДЯС связаны в первую очередь с достижениями в области медицины. Они предусматривают соблюдение принципов первичной хирургической обработки раны с ее закрытием одним из пластических методов, которые выполняются в ходе восстановительной операции (Глухов А.А., 2018; Armstrong D.G. et al., 2017).

СДС в соответствии с концепцией, принятой Консенсусом по диабетической стопе, характеризуется наличием язвенного дефекта или деструкцией глубоких тканей, связан с неврологическими нарушениями, снижением магистрального кровотока в артериальном бассейне нижних конечностей различной степени тяжести, с нарушением всех фаз заживления раны (Галимов О.В. с соавт., 2021; Boulton A.J., 2018; Watson J.C., 2015).

Процесс заживления состоит из четырех последовательных и в то же время частично перекрывающихся фаз: 1) коагуляции, 2) воспаления, 3) пролиферации и 4) ремоделирования с образованием рубцовой ткани (Sorg H. et al., 2017).

Современное лечение СДС проводится с активным применением эндогенных факторов роста в качестве плазмы, обогащенной тромбоцитами, а также применением тканевой инженерии (Katari R., 2014).

Среди тромбоцитарных факторов роста выделяют васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β), эпидермальный фактор роста (EGF) и инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF- β) (Мельникова Ю.А., 2020; Takahashi T., 2011; Rodriguez A. et al., 2013; Wu Z. et al., 2015; Zhao L. et al., 2017).

Проблема лечения ДЯС в последние годы получила новое развитие в связи с прогрессом в области создания современных раневых покрытий, применением ультразвуковой кавитации и применением терапии отрицательным давлением (Иванов Г.Г., 2018; Ивануса С. Я., 2021; Чудин В.В., 2021).

В литературе представлены сообщения о преимуществах применения современных подходов в лечении ДЯС (Галстян Г.Р., 2018; Armstrong D.G. et al., 2017). Несмотря на положительные результаты, достигнутые в решении этой проблемы, вопрос выбора метода и сроков лечения остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Вместе с тем лечение ДЯС является значимой не только медицинской, но и социальной проблемой. Последние исследования биохимических, молекулярных и генных процессов в процессе заживления ран дают научно обоснованные предпосылки для апробации новых методов воздействия пептидными регуляторами местного действия в целях коррекции раневого процесса. К таким регуляторам относятся факторы роста, применяемые для заживления ран (Комелягина Е.Ю., 2018).

В свете современных подходов к лечению больных сахарным диабетом с язвенно-некротическим поражением нижних конечностей особенно важным является изучение состояния цитокиновой системы как при формировании СДС в условиях дисбаланса метаболических нарушений, так и при различных вариантах хирургического лечения с активным использованием методов физического воздействия (Fuss J. et al., 2018).

Таким образом, исследование роли факторов роста, цитокинов в патофизиологических процессах репарации язвенных дефектов при СДС являются актуальными при применении различных лечебных программ.

Вместе с тем недостаток доказательных данных и опыта применения этих подходов в условиях здравоохранения стали побудительным мотивом для проведения данного исследования.

Связь работы с научными программами, темами

Диссертационная работа выполнена согласно плану научно-исследовательской работы кафедры внутренних болезней №2 ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России и является фрагментом темы «Макро- и микрососудистые осложнения у больных с сахарным диабетом 2 типа: клинико-лабораторные, инструментальные особенности и лечебная тактика» (шифр работы УН 21.02.10).

Цель исследования: обосновать выбор программ хирургического лечения пациентов с диабетическими язвенно-некротическими поражениями нижних конечностей на основании уточнения сведений о патогенезе раневого процесса (выделенных наиболее значимых прогностических предикторов раневого процесса) и созданной математической модели.

Задачи исследования:

1. Изучить клинические особенности структуры, формы, степени тяжести сахарного диабета у больных с синдромом диабетической стопы.
2. Исследовать морфогенез и бактериологическую картину диабетических язвенных дефектов на фоне лечения с применением методов физического воздействия.
3. Оценить клиническую эффективность реконструктивно-восстановительных операций на сосудах нижних конечностей с использованием методов физического воздействия.
4. Проанализировать комплекс клинико-патофизиологических (функциональных, биохимических) показателей состояния сердечно-сосудистой системы и почек у пациентов с синдромом диабетической стопы.
5. Изучить динамику патогенетически значимых показателей эндотелиальной дисфункции на основе исследования факторов роста (VEGFA,

PDGF-BB, TGF-1 β), иммунорегуляторных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , INF- γ , IL-6, IL-10) и клинико-функциональных нарушений.

6. Определить взаимосвязь между исследованными маркерами эндотелиальной дисфункции у пациентов с синдромом диабетической стопы на фоне лечебных программ с применением методов физического воздействия.

7. Разработать математическую модель прогнозирования послеоперационных осложнений и исхода лечения язвенно-некротических поражений нижних конечностей у больных сахарным диабетом.

8. Изучить возможность прогнозирования сроков заживления язвенных поражений стопы при использовании методов физического воздействия с учетом факторов роста (VEGFA, PDGF-BB, TGF-1 β).

9. Оценить эффективность дифференцированного подхода к выбору патогенетически обоснованных лечебных программ, основанных на применении методов физического воздействия, у пациентов с синдромом диабетической стопы.

Объект исследования: особенности гнойно-некротического поражения нижних конечностей на фоне сахарного диабета во взаимосвязи с использованием различных лечебных программ.

Предмет исследования: патоморфологические, бактериологические, иммунноферментные (цитокины INF γ , IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-10), биохимические и клинические показатели, факторы роста (VEGFA, PDGF-BB, TGF-1 β), характеризующие особенности раневого процесса и эффективность хирургического лечения пациентов с СДС.

Научная новизна

Установлена роль наиболее значимых предикторов формирования, течения и исходов раневого процесса для применения дифференцированного подхода к лечению больных с СДС.

Впервые изучены морфогенетические особенности диабетических язв в зависимости от методов физического воздействия (VAC-терапия, УЗ-кавитация и лазеро-, озонотерапия), включенных в лечебные программы.

Проведен сравнительный анализ эффективности реконструктивно-восстановительных операций на сосудах нижних конечностей с использованием методов физического воздействия (VAC-терапия, УЗ-кавитация и лазеро-, озонотерапия) на заживление диабетических язв.

Впервые исследована частота послеоперационных осложнений при применении гиполипидемической терапии, включающей умеренные/ высокие дозы статинов и урсодезоксихолевой кислоты.

Доказана патогенетическая роль факторов роста VEGFA, PDGF-BB, TGF- 1β и иммунорегуляторных цитокинов $INF\gamma$, IL- 1β , $TNF\alpha$, IL-6 и IL-10 в механизмах воспалительно-репаративных процессах у пациентов с СДС. Показана взаимосвязь изученных факторов роста и иммунорегуляторных цитокинов в дисбалансе метаболических нарушений, а также в процессах ангиогенеза, митогенеза и фиброгенеза.

Впервые продемонстрированы специфические изменения содержания VEGFA, PDGF-BB, TGF- 1β , $INF\gamma$, IL- 1β , $TNF\alpha$, IL-6 и IL-10 при применении различных методов физического воздействия на заживление диабетических язв.

Впервые разработана математическая модель прогнозирования исхода лечения у больных сахарным диабетом с язвенно-некротическим поражением нижних конечностей, включающая 5 входных признаков: «Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулинотерапия», обладающая наилучшими прогностическими способностями.

Разработана нейросетевая модель прогнозирования послеоперационных осложнений у больных сахарным диабетом с язвенно-некротическим поражением нижних конечностей, включающая следующие признаки: тип диабета, степень по Вагнеру, пол и тяжесть состояния пациента при поступлении.

Впервые разработан прогноз вероятности заживления диабетических язв в зависимости от методов физического воздействия (VAC-терапия, УЗ-кавитация и лазеро-, озонотерапия) у больных с СДС.

Доказана эффективность патогенетического подхода в выборе лечебных программ, что подтверждалось сокращением средней длительности стационарного лечения в группе с VАС-терапией, УЗ-кавитацией и лазеро-, озонотерапии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Расширены представления о патогенезе диабетических язвенных поражениях стопы путем изучения патогенетической роли наиболее значимых предикторов в формировании, течении и исходах раневого процесса у больных с СДС.

Продемонстрированы структурно-функциональные и метаболические особенности воспалительно-репаративного процесса диабетических повреждений при различных видах физического воздействия, включенных в лечебные программы.

Проведен анализ и показана высокая значимость отдельных лабораторных методов исследования таких как определение показателей липидного спектра сыворотки крови, которые статистически значимо увеличивались, а концентрация антиатерогенных фракций отчетливо снижалась, что можно интерпретировать как свидетельство важной роли липидных нарушений в патофизиологии язвенных поражений стоп при диабете.

Разработана и рекомендована нейросетевая модель прогнозирования послеоперационных осложнений у больных сахарным диабетом с язвенно-некротическим поражением нижних конечностей. На основании проведенных расчетов параметров модели чувствительность ее составила 82,5%, специфичность – 85,1% и точность – 82,0%.

Разработана и рекомендована для практического применения математическая модель прогнозирования исхода лечения у больных с СДС, обладающая высокой диагностической ценностью (чувствительностью – 98,8% и специфичностью – 84,4%).

Установлено, что вакуумную терапию, ультразвуковую кавитацию, лазеротерапию можно использовать в качестве высокоэффективных методов

лечения, успешно дополняющих традиционное лечение пациентов с осложненными формами синдрома диабетической стопы.

Полученные данные внедрены в работу хирургического отделения Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака (г. Донецк, 83045, Ленинский проспект, д. 47), хирургического отделения Донецкого клинического территориального медицинского объединения (г. Донецк, 28300, проспект Ильича, 14), Торезской центральной городской больницы (г. Торез, 86600, м-н-4), центральной городской клинической больницы №9 г. Донецка (г. Донецк, 83030, ул. Ельницкая 1), городской клинической больницы №21 г. Донецка (г. Донецк, 83071, пр. Кремлевский, 12а), Клинической Рудничной больницы г. Макеевки (г. Макеевка, ул. Больничная, 1), городской больницы №1 г. Енакиево (г. Енакиево, ул. 60 лет СССР, 37). Получены акты внедрения.

Материалы работы могут быть использованы в преподавательской деятельности на кафедрах патологической физиологии, патологической анатомии, хирургии, а также могут быть рекомендованы для широкого применения в хирургических стационарах.

Помимо того, материалы работы используются в преподавательской деятельности на кафедре хирургии ФИПО ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России (г. Донецк, 83003, проспект Ильича, д. 16).

Методология и методы исследования

Работа выполнена на материале хирургического отделения ГБУ «ЦГКБ №9 г. Донецка», ГБУ «ГКБ №21 г. Донецка, отделения сосудистой хирургии ДОКТМО Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. Донецк. Исследование построено на принципах выполнения научно-исследовательских работ, которые основаны на фундаментальных и современных тенденциях патофизиологии и хирургического лечения ДЯС. Методология исследования включала в себя анализ литературы по проблеме этиопатогенеза и лечения ДЯС, а также о роли факторов роста и цитокинов в репарации диабетических язв, построение научной гипотезы, постановку цели и задач работы, разработку дизайна и протокола исследования, сбор, обработку и

обобщение материала, формулировку выводов, практических рекомендаций. Для выполнения поставленных задач и сформированных основных положений диссертации выполнен анализ литературных источников, проведены патоморфологические, бактериологические, иммуноферментные (определение цитокинов, факторов роста VEGFA, PDGF-BB, TGF- 1β) и клинико-лабораторные методы исследования. Весь математический анализ проводился с помощью лицензионных программ Microsoft Office Excel (v. 14.0.7237.5000 32-разрядная, номер продукта: 02260-018-0000106-48881, Microsoft Corporation, 2010), STATISTICA 10 (StatSoft Inc., USA), онлайн-калькулятора (<http://gen-exp.ru/calculatoror.php>), адекватных математических методов и критериев.

Положения, выносимые на защиту:

1. Различные методы физического воздействия, включенные в лечебные программы, сопровождаются специфическими морфогенетическими проявлениями раневого процесса.
2. Динамика факторов роста (VEGFA, PDGF-BB, TGF- 1β) и иммунорегуляторных маркеров (INF γ , IL- 1β , TNF α , IL-6 и IL-10) при СДС свидетельствует о снижении степени воспаления и сокращения длительности стадий раневого процесса при дополнительном использовании методов физического воздействия в лечебных программах, что сопровождалось эффективной репарацией.
3. Коррекция нарушений липидного обмена с помощью гиполипидемической терапии и урсодезоксихолевой кислоты способствовало сокращению частоты осложнений у пациентов с СДС.
4. При прогнозировании послеоперационных осложнений у пациентов с СДС целесообразно использование математической модели, построенной на следующих признаках: тип диабета, степень по Вагнеру, пол и тяжесть состояния пациента при поступлении.
5. При прогнозировании исхода лечения пациентов с СДС целесообразно использование математической модели, построенной на 5 признаках: «Тип СД»,

«Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулинотерапия».

6. Применение вакуумной терапии, ультразвуковой кавитации и лазеротерапии способствует сокращению длительности фаз раневого процесса, росту грануляционной ткани, пролонгации эффекта деконтаминации раневой поверхности, а также способствует разрушению биопленки, приводя не только к прямому бактерицидному действию, но и к снижению количества рецидивов гнойно-некротических осложнений.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов основана на подборе репрезентативных групп в результате лечения больных с диабетической стопой в соответствии с поставленными задачами исследования. Проведенные исследования выполнены с использованием современных патоморфологических, иммуноферментных и биохимических методов исследований и подтверждены общепринятыми методами статистической обработки данных. Составлен акт проверки первичной документации. Проведенный анализ полученных данных подтвердил правильность выдвинутых гипотез.

Результаты диссертационного исследования доложены на XII Съезде хирургов России (г. Ростов-на-Дону, 7-9 октября 2015г.), XXVII Всероссийском симпозиуме по эндокринной хирургии с участием эндокринологов («Калининские чтения») (г. Симферополь, 28-29 сентября 2017г.), 5-й Международный конгресс «Сахарный диабет, его осложнения и хирургические инфекции» (г. Москва, 21-23 ноября 2022г.), XXXII Российском симпозиуме по хирургической эндокринологии («Калининские чтения») (г. Челябинск, 30 сентября - 1 октября 2022г.), III съезд хирургов ПФО (г. Нижний Новгород, 7 октября 2022г.), I Международной научно-практической конференции «Современный взгляд на проблемы внутренней медицины» (г. Курск, 1 декабря 2022г.), Международном медицинском форуме «Наука побеждать болезнь» (Донецк, 11-12 ноября 2021г., 15-16 декабря 2022г.).

Личное участие автора

Диссертантом разработана концепция диссертационной работы, проведена разработка основных теоретических и практических положений диссертации, проведен анализ литературных источников. Диссертантом обоснован выбор методики обследования и лечения, проведены клинические и лабораторные исследования. Диссертант лично выполнял оперативные пособия у больных с СДС. У 25% больных диссертант был в качестве лечащего врача с 2014 года, принимал участие в лечении, участвуя в 75% операций, дежурствах в клинике. В публикациях, изданных в соавторстве, основные идеи и материал принадлежат диссертанту. Патоморфологические исследования проводились на базе кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России (доц. Кондратюк Р.Б.). Иммуноферментные иммунологические и биохимические исследования выполнялись в УНЛК ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России (зав. отд. Мельник А.В.). Статистическая и математическая обработка полученных результатов проведена на базе ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России (доц. Тетюра С.М.).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 35 научных работ, в том числе глава в монографии, 34 статьи в рецензируемых научных журналах, оформлено 3 рационализаторских предложения.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 314 страницах текста компьютерной верстки (275 страниц основного текста, 39 страниц списка литературы) и включает: введение, обзор литературы и методов исследования, семь глав собственных исследований, заключение, выводы и практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 69 таблицами и 56 рисунками. Список литературы включает 340 источников, в том числе 111 отечественных и 229 иностранных авторов.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА И ЛЕЧЕНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКИХ ЯЗВ СТОПЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Сахарный диабет (СД) - является одной из самых острых медико-социальных проблем современности, охватывающей большинство экономически развитых государств [20,25,119]. По данным Международной федерации диабета в 2017 году во всем мире насчитывалось 425 миллионов человек с диабетом, а к 2045 г. ожидается 700,2 миллионов больных СД [119, 123,219].

Общая численность пациентов с сахарным диабетом (СД) в РФ, состоящих на диспансерном учете, на 01.11.2021 г., по данным регистра, составила 4 799 552 человек (3,23% населения РФ), из них: СД1 — 5,5% (265,4 тыс.), СД2 — 92,5% (4,43 млн), другие типы СД — 2,0% (99,3 тыс.) [20, 24,110].

Осложнения заболевания варьируются в зависимости от типа диабета, времени с момента начала и степени метаболического нарушения, причем наиболее распространенными являются следующие: нейропатия — 25%; ретинопатия — 32%; и нефропатия — 23% [69,119]. Ежегодная частота развития диабетических язв стопы (ДЯС) среди больных с СД в западных странах составляет 2-2,5%, в целом в мире этот показатель достигает 6,3% [245, 250]. Примерно 5-10% лиц с диабетом либо имеют язвенные поражения стоп в настоящее время, либо имели его ранее; около 1% из них подвергались ампутациям. Установлено, что частота рецидивов ДЯС через три года составляет более 50% [74,166] и является основной причиной госпитализации, ампутации и смертности у пациентов с диабетом [8,20 , 25,62].

По данным Международной федерации диабета, расходы на здравоохранение у людей с СД в возрасте 20–79 лет составляют 727 млрд. долларов США [219]. Обучение пациентов ортопедическому уходу может

предотвратить развитие ДЯС и снизить заболеваемость. Понимание этиологии изъязвления необходимо для выявления участков поражений стоп, подверженных риску образования язв, и обеспечения надлежащего профилактического ухода, что тем самым снижает частоту поражений стопы с последующей её ампутацией [88,280]. Развитию ДЯС при СД способствует целый ряд факторов действия каждого из которых по отдельности недостаточно для формирования язв, однако в совокупности они приводят к нарушению целостности кожи [35,55,68,106]. К ним относятся диабетическая нейропатия, деформации и травматизация стоп. Сочетание всех трех компонентов имеется более чем в 60% случаев язвообразования. Нередкими важными факторами также являются ишемия нижних конечностей и присоединение инфекции [116,137,138].

Диабетическая периферическая нейропатия

Диабетическая периферическая нейропатия (ДПН) определяется как наличие симптомов и/или признаков дисфункции периферических нервов у пациентов с СД после исключения других причин [126,219,318]. ДПН является наиболее частым осложнением с распространенностью более 60% у больных с СД [323]. Воздействие на сенсорные, двигательные и вегетативные нервы может изменить способность пациента воспринимать определенные раздражители: боль, температуру, давление и прикосновение [137,138,144]. Моторная нейропатия может поражать мелкие мышцы стопы, вызывая их атрофию, слабость, деформацию пальцев стопы, выступающие плюсневые кости и, в свою очередь, ограничение подвижности суставов. С другой стороны, вегетативная нейропатия снижает потоотделение в сочетании с вовремя не выявленными травмами, ограничением подвижности суставов и деформацией нижних конечностей, ассоциированной с ДПН, а также может вызывать нарушение целостности кожных покровов, воспаление и некроз тканей, что в итоге приведет к развитию ДЯС [116,199].

Диабетическая ангиопатия

Гипергликемия вместе с окислительным стрессом продуцирует конечные продукты усиленного гликирования, которые участвуют в развитии микро- и макрососудистых осложнений у людей с СД [1]. Диабетическая ангиопатия представляет собой сосудистое заболевание, характеризующееся атеросклеротическим облитерирующим поражением нижних конечностей, которое обнаруживается примерно у 30% пациентов с ДЯС [6,116]. Их развитие представляет собой постепенный процесс, при котором артерия блокируется, сужается или ослабевает и, в дополнение к длительному воспалению в микроциркуляторном русле, приводит к утолщению капилляра, что ограничивает эластичность капилляров и приводит к ишемии [116]. При СД 2 типа часто встречается артериосклероз Мёнкеберга, который связан с прогрессирующим обызвествлением средней оболочки артериальной стенки, оставляя интиму интактной [239]. Артериосклероз Мёнкеберга может препятствовать компенсаторному ремоделированию стенок артерий и ускорять стенозирующую фазу атеросклероза [197,239]. Изолированное поражение периферических артерий без воздействия других уже рассмотренных факторов редко само вызывает формирование язв. Однако нередко наблюдаемое сочетание периферических сосудистых поражений с травматизацией значительно повышает риск язвообразования. Даже небольшое повреждение и сопутствующее ему инфицирование существенно увеличивают локальную потребность в кровоснабжении; если эта потребность превышает сниженные вследствие ишемизации возможности доставки крови, развивается уже ишемическое изъязвление, повышающее риск ампутации [137].

Инфекция

При развитии ДЯС появляется риск возникновения инфекции, в основном из-за длительного воздействия окружающей среды на рану [47,116,260]. В литературе сообщалось об иммунологических нарушениях у пациентов с СД, таких как измененный фагоцитоз и бактерицидная активность

полиморфноядерных клеток; нарушение хемотаксиса и фагоцитарной функции моноцитов/макрофагов; нарушения клеточного врожденного иммунитета и аномальная продукция цитокинов моноцитами [196]; изменение субпопуляций лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов [42]. Эти аномалии, в основном связанные с врожденным иммунитетом, по-видимому, играют роль в восприимчивости пациентов с диабетом к инфекциям, особенно резистентными патогенами [181,193,259].

Развитие инфекции у пациентов с ДЯС еще больше усугубляют процесс заживления ран, обуславливая частые обращения в стационар и являясь основным осложнением, приводящим к нетравматическим ампутациям нижних конечностей у больных СД [166,254]. Приблизительно у 58% больных с ДЯС присоединяется инфекционный компонент [262]. На коже человека обитает большое разнообразие патогенных и непатогенных микроорганизмов. Как правило, в инфицированной ДЯС обнаруживают от трех до пяти видов различных микроорганизмов, включая следующие: грамположительные аэробы (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium* spp.); грамположительные анаэробы (*Enterococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Peptococcus* spp.); грамотрицательные аэробы (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.); грамотрицательные анаэробы (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Bacteroides* spp.); грибки (*Candida* spp.) [200,263]. В странах с низким уровнем дохода отмечается более высокая распространенность грамотрицательных возбудителей, наиболее распространенным из которых является *Pseudomonas aeruginosa* [258, 275].

В мировой клинической практике принята единая классификация СДС, согласно которой различают три основные клинические формы [125]:

1. Нейропатическая форма:

- а) трофическая язва стопы;

- б) диабетическая остеоартропатия (стопа Шарко).

2. Ишемическая форма (окклюзирующее заболевание артерий нижних конечностей предшествует СД).

3. Нейроишемическая форма.

В литературе представлен целый ряд классификационных систем для диабетических язвенных поражений стоп. Приведем две широко используемые и достаточно удобные классификации Wagner и University of Texas (Рисунок 1.1.) [125,321]. Первая преимущественно ориентирована на глубину язв, во второй также учитывается наличие или отсутствие инфицирования и ишемии. В проспективном исследовании показано, что вторая классификационная система обеспечивает более высокую точность прогнозирования исходов язвенных поражений в сравнении с первой.

Классификация диабетических язвенных поражений стоп, Wagner				
Степень	Описание			
0	Отсутствие язв, но высокий риск (например, деформации, мозоли, нарушения чувствительности)			
1	Поверхностная язва глубиной на всю толщину кожи			
2	Более глубокая язва, пенетрирует сухожилия, без вовлечения кости			
3	Еще более глубокая язва, с вовлечением кости, остеоит			
4	Частичная гангрена (например, пальцев, передней части стопы)			
5	Гангрена всей стопы			

Классификация ран University of Texas				
Стадия	Степень 0	Степень 1	Степень 2	Степень 3
A	Пред-язвенные или пост-язвенные поражения, нет повреждений кожи	Поверхностная язва	Глубокая язва, достигающая сухожилия или капсулы сустава	Рана с пенетрацией в кость или сустав
B	+ инфекция	+ инфекция	+ инфекция	+ инфекция
C	+ ишемия	+ ишемия	+ ишемия	+ ишемия
D	+ инфекция и ишемия	+ инфекция и ишемия	+ инфекция и ишемия	+ инфекция и ишемия

Рисунок 1.1- Распространенные в мире классификационные системы язвенных поражений стоп при сахарном диабете

1.1. Процесс эпителизации язв при сахарном диабете

В норме заживление раны включает в себя четкую последовательность как биологических, так и молекулярных процессов и начинается с миграции и пролиферации клеток в зоне повреждения, перестройки экстрацеллюлярного

матрикса, а заканчивается ремоделированием вновь образованных тканей и сосудов. Эффективная репарация не состоится без своевременного и точного клеточного ответа, заключающегося в активации кератиноцитов, фибробластов, эндотелиальных клеток, макрофагов и тромбоцитов [180,194,239]. Вышеперечисленные клетки вырабатывают различные факторы роста и цитокины, играющие ключевую роль в регуляции раневого процесса и достижении эпителизации [249,250,265,327,328].

Основная проблема с диабетическими язвами заключается в том, что они не следуют нормальному процессу заживления ран, то есть динамическому процессу, включающему четыре фазы: гемостаз, воспаление, пролиферацию и ремоделирование. У здоровых людей закрытие раны состоит из нескольких процессов, которые происходят последовательно: быстрый гемостаз, включающий агрегацию тромбоцитов с образованием тромбоцитарной пробки; фаза воспаления, когда нейтрофилы, макрофаги и тучные клетки выделяют провоспалительные цитокины; сокращение раны при уменьшении воспаления – происходит ангиогенез, миграция кератиноцитов и фибробластов, формирование внеклеточного матрикса; и, наконец, фаза ремоделирования, когда грануляционная ткань превращается в зрелую рубцовую ткань [269]. У больных СД нарушаются процессы закрытия раны, начиная со снижения фибринолиза и дисбаланса цитокинов, что вызывает нарушение закрытия раны. Также наблюдается снижение ангиогенеза из-за гипергликемии и миграция клеток, таких как кератиноциты и фибробласты, уменьшается, вызывая недостаточную реэпителизацию; таким же образом плохое производство внеклеточного матрикса фибробластами способствует проблеме недостаточного закрытия раны.

Гемостаз

Первая фаза процесса восстановления клеток включает активацию, агрегацию и адгезию тромбоцитов к поврежденному эндотелию для поддержания гемостаза – явление, известное как коагуляция. Как только этот

процесс инициирован, фибриноген превращается в фибрин, образуя тромб и временный внеклеточный матрикс. Также в процессе участвуют другие клетки, такие как активированные тромбоциты, нейтрофилы и моноциты, которые выделяют некоторые белки и различные факторы роста, такие как фактор роста тромбоцитов (PDGF) и трансформирующий фактор роста β (TGF- β) [284]. По сравнению со здоровыми людьми, у пациентов с СД наблюдаются гиперкоагуляция и снижение фибринолиза [252].

Воспаление

При повреждении ткани имеет место воспалительный процесс, поскольку нейтрофилы, макрофаги и тучные клетки отвечают за выработку воспалительных цитокинов, таких как интерлейкин 1 (ИЛ-1), интерлейкин 6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли-альфа (TNF- α) и гамма-интерферон (IFN- γ), а также несколько факторов роста, таких как PDGF, эпидермальный фактор роста (EGF) и инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) являются основными в процессе эпителизации ран [5,144,146,158,195,237,302]. У больных СД наблюдается нарушение равновесия этих цитокинов, что приводит к модификации заживления раны [56,335]. Имеются данные, что нейтрофилы демонстрируют измененный характер высвобождения цитокинов и снижение своей функциональности и таким образом способствуют восприимчивости к раневой инфекции [275,316].

Пролиферация

При уменьшении воспаления в месте поражения запускается несколько процессов: происходит уменьшение размеров раны; ангиогенез для восстановления снабжения кислородом; и формируются белки внеклеточного матрикса, включая коллагены, фибронектин и витронектин, которые необходимы для движения клеток в дополнение к миграции кератиноцитов. Все эти процессы необходимы для восстановления целостности и функциональности ткани [198]. Вследствие гипергликемии у больных с СД снижена миграция фибробластов и кератиноцитов, а также их пролиферативная способность. Аномальная миграция клеток вызывает недостаточную

реэпителизацию диабетической раны, влияя на процесс заживления [201,284]. Кроме того, имеется сообщение, что у больных с СД снижается ангиогенез и, следовательно, уменьшается кровоток [202];

Этап ремоделирования

Эта фаза начинается примерно через неделю после заживления раны и может длиться более шести месяцев. Здесь синтезируется больше коллагена, чем разрушается, и он заменяет временный внеклеточный матрикс, первоначально образованный фибрином и фибронектином. Эта грануляционная ткань становится зрелой рубцовой тканью, а также повышает устойчивость к ране, заканчиваясь образованием рубца [204]. Фибробласты больных СД имеют измененную функцию, что способствует неполноценному закрытию раны; хотя механизм недостаточно изучен, считается, что это связано с аномальной продукцией внеклеточного матрикса [247].

1.2.Лечение диабетических язв стопы

Одной из стратегий ведения пациентов с ДЯС является введение междисциплинарного подхода и рассмотрение многофакторных процессов, связанных с ДЯС. Применение мультидисциплинарного подхода, включающего привлечение соответствующих специалистов (ортопеда, пластического хирурга, сосудистого хирурга, диетолога и эндокринолога) продемонстрировало эффект снижения рисков, связанных с ДЯС и ампутацией на 50-85%, что существенно снижает финансовые затраты и приводит к улучшению качества жизни пациентов с ДЯС [61,78,107,322].

Лечение больных ДЯС включает контроль уровня гликемии, уход за раной, разгрузку стопы и оптимизацию кровотока [48,105,132,331]. С технологическим прогрессом были реализованы другие методы лечения ДЯС, такие как разработка заменителей кожи, терапия отрицательным давлением, гипербарическая оксигенация, ультразвуковая кавитация, создание новых повязок для ран, которые включают факторы роста, а также использование тканей из биоинженерии [49,124,229,244]. Таким образом, своевременное

лечение ДПН, диабетической ангиопатии и инфекций дает обнадеживающие результаты [40, 49, 108, 132,207].

Хирургическая обработка должна выполняться на всех хронических ранах для удаления мертвых и нездоровых некротических тканей [22,25,41,123]. Она также помогает устранить первичный очаг аномального повреждения, мозоли (эпидермальный гиперкератоз), некротическую ткань дермы и бактериальные элементы, которые могут препятствовать заживлению ран.

Лечение диабетической периферической нейропатии

ДПН является фактором, повышающим риск возникновения ДЯС из-за потери чувствительности в конечности, что делает пациентов уязвимыми к травмам [129,209,312]. Гликемический контроль является основным при лечении ДПН [219]. Нормогликемия более эффективно восстанавливается при трансплантации поджелудочной железы [221]. Несколько исследований продемонстрировали улучшение двигательной и сенсорной нейропатии у пациентов с ДПН после того, как они перенесли трансплантацию поджелудочной железы [219,221,300].

Фармакологическое лечение применяется при болезненной ДПН, проявляющейся онемением, жжением, колющими или мучительными болями. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило только три препарата для лечения боли, связанной с ДПН, а именно прегабалин, тапентадол и дулоксетин [190,223]. Другая фармакологическая терапия включает анальгетики, такие как трамадол, ацетаминофен и некоторые опиоиды, такие как оксикодон, которые вызывают запор и тошноту в качестве побочных эффектов и должны приниматься с осторожностью [224]. Эффективность в лечении нейропатической боли показала терапия антидепрессантами, такими как амитриптилин, нортриптилин и венлафаксин. Несмотря на это, проведено недостаточное количество исследований, показывающих эффективность этих препаратов [226].

Альфа-липоевая кислота (АЛК) была предложена в качестве потенциального терапевтического средства при лечении ДПН; её

антиоксидантная способность, по-видимому, задерживает повреждения периферических нервов. В нескольких рандомизированных контролируемых исследованиях (РКИ) на людях изучалось влияние АЛК на развитие диабетической нейропатии. Метаанализ четырех РКИ (n = 653) показал, что по сравнению с плацебо внутривенное введение АЛК (600 мг в день) уменьшало симптомы нейропатии при введении в течение трех недель, но улучшение симптомов при пероральном приеме АЛК (> 600 мг в день в течение 3-5 недель) не было клинически значимым [227].

В настоящее время лечение, основанное на использовании мезенхимальных стволовых клеток (МСК), полученных из жировой ткани, рассматривается как потенциальное лечение ДПН. Эти методы лечения способствуют выработке проангиогенных, нейропротекторных и противовоспалительных факторов, которые оказывают положительное влияние на клинические проявления заболевания [126,142,228,231]. С другой стороны, было показано, что использование биологической терапии низкими дозами IL-6 способствует улучшению кровотока, уменьшению хронического воспаления и регенерации периферических нервных волокон. Соответственно, IL-6 может оказаться эффективным средством для восстановления функции периферических нервов при ДПН [230];

1.3.Лечение диабетической ангиопатии

Согласно рекомендациям Трансатлантического консенсуса (TASC) больные СД, имеющие язвенно – некротические поражения на стопе или ишемические боли в покое, должны быть обследованы сосудистым хирургом с помощью физикальных и инструментальных методов на предмет наличия поражений магистральных сосудов нижних конечностей [21].

При хронической ишемии нижних конечностей, обусловленной диабетической макро- и микроангиопатией, выбор между открытой и эндоваскулярной реконструкцией скорее имеет взаимодополняющий, а не исключаяющий характер. Взаимодействие этих двух методик в аспекте

мультидисциплинарного подхода дает более положительные результаты лечения этой группы пациентов [15].

Несмотря на снижение доли пациентов, которым были выполнены открытые шунтирующие операции, а также бурное развитие эндоваскулярных технологий, довольно часты ситуации, когда ввиду анатомических и клинических особенностей артериального русла пациента выполнение открытого вмешательства остается единственным вариантом выбора [19].

Лечебные мероприятия при диабетической ангиопатии могут предусматривать выполнение реваскуляризационных процедур, включая эндоваскулярные вмешательства или дистальные шунтирующие операции [7,12,72,84]. Подчеркивается важность своевременного, без излишней пролонгации, проведения реваскуляризационных процедур для лиц с наличием отчетливых клинико-инструментальных данных о наличии ишемизации и особенно, ишемических язв стопы (показано, что если решение о вмешательстве необоснованно откладывается, это явственно повышает риск ампутации) [191,205,206].

Шунтирование обычно более эффективно и обеспечивает длительную проходимость при закупорке общей бедренной артерии и ее бифуркации или при длительной окклюзии бедренно-подколенных и подколенных сосудов; однако диабетические ангиопатии желательно лечить с помощью эндоваскулярного подхода в центрах с большим опытом ангиопластики [314]. Альтернативными методами лечения диабетической ангиопатии являются ангиопластика нижних конечностей, при которой небольшой баллон вводится в узкий участок артерии и раздувается, чтобы улучшить кровоток [207,273]. Атерэктомия — еще одна методика, при которой атеросклеротическая бляшка иссекается вращающимся режущим лезвием. Однако нет доказательств превосходства атерэктомии над ангиопластикой в отношении каких-либо исходов [314]. После выполнения любой из вышеупомянутых вмешательств пациент должен получить специализированную помощь, включающую

фармакологическое лечение гипертензии, гиперхолестеринемии, профилактику послеоперационных осложнений (кровотечение) [48,126,129,191].

Повязки

В руководствах по клинической практике рекомендуется использовать раневые повязки для поддержания влажной среды в ране, содействия всасыванию экссудата, предотвращения инфекций и ускорения заживления язв [17,21,82,206]. Стандартные повязки, используемые при диабетических ранах, — это те, которые не прилипают, например, бинты [287]. Однако разрабатываются специализированные повязки, в том числе гидрогелевые [30,147,167]. Zhao et al. установили, что гидрогель с инсулином и фибробластами в качестве биоактивных повязок имеет многообещающий эффект в лечении ДЯС, способствуя неоваскуляризации, отложению коллагена и заживлению ран [340]. Что касается гидроколлоидных и пенопластовых повязок, в исследованиях не было обнаружено никаких доказательств того, что эти повязки более эффективны, чем стандартные [90,168]. Препятствует заживлению и неадекватная обработка раневой поверхности. Хирургическая обработка раны включает в себя удаление некротизированных тканей, наложений фибрина, участков гиперкератоза. Это позволяет устранить основу для развития инфекции. Качественное устранение некротизированных и мацерированных тканей и мозолей является необходимым компонентом лечебной программы, способствуя достижению положительного результата [146,206,207,278].

Разгрузка стопы

Постоянный и повторяющийся травматизм стопы из-за неподходящей обуви способствует развитию ДЯС [185]. Для снятия давления у больных с нейропатическими язвами обычно используют обувь с жесткой подошвой, аккомодационные повязки и иммобилизирующая разгрузочная повязка (Total Contact Cast), съемные или неподвижные ортезы. Их использование оказывает существенное влияние на снижение подошвенного давления. Например, при неосложненных подошвенных язвах для достижения хорошего результата необходим период 32–52 суток. Показано, что Total Contact Cast эффективна на

70%, а также она также используется в качестве эталонного лечения ДЯС Американской ассоциации диабета [245]. Обычная обувь неэффективна для эпителизации ДЯС из-за несоблюдения пациентом рекомендаций по ношению обуви [285]; тем не менее, они рекомендуются из-за их низкой стоимости [272].

Лечение инфекции

Антибиотикотерапия инфицированных ДЯС будет в первую очередь эмпирической, в соответствии с вероятным возбудителем и тяжестью инфекции. Продолжительность терапии зависит от тяжести инфекции, например, легкая инфекция может сохраняться в течение 1–2 недель, тяжелая инфекция — 2–4 недели или дольше при наличии остеомиелита [23,29,43,201].

Рекомендуемая эмпирическая антибактериальная терапия в зависимости от степени тяжести: диклоксациллин, цефалексин, клиндамицин или амоксициллин/клавуланат — для случаев легкой и средней степени тяжести; ванкомицин + ампициллин/сульбактам, моксифлоксацин, цефокситин или цефотетан — в случаях средней тяжести; и ванкомицин + пиперациллин/тазобактам, имипенем/циластатин, меропенем или дорипенем — в тяжелых случаях [130]. В инфицированной ране присутствует несколько параметров, такие как время развития инфекции, иммунный статус пациента, полимикробная инфекция и предшествующее лечение противомикробными агентами, которые могут способствовать возникновению устойчивости к противомикробным препаратам [182,292]. Наибольшей проблемой для инфицированных ДЯС являются грамотрицательные микроорганизмы, которые продуцируют бета-лактамазу или карбапенемы и даже вызывают устойчивость к метилциклину с промежуточной устойчивостью к ванкомицину [253].

Антимикробные пептиды

В настоящее время появление и распространение бактерий, устойчивых к обычным антибиотикам, становится глобальной угрозой. В связи с этим разработаны альтернативные препараты. Антимикробные пептиды (АМП) представляют собой молекулы иммунной системы млекопитающих, функция

которых заключается в борьбе с вторгшимися патогенами [243]. АМП являются мощными агентами против широкого спектра патогенов, включая вирусы, грибки и устойчивые к антибиотикам бактерии, и обладают противоопухолевой активностью со сложным механизмом действия. Они способны нацеливаться на цитоплазматическую мембрану и вмешиваться в синтез ДНК и белка, синтез клеточной стенки, вмешиваясь таким образом в иммуномодулирующие функции, включая воспалительный процесс и рубцевание [255,273]. Антимикробные пептиды млекопитающих можно обнаружить в гранулах нейтрофилов, эпителиальных клетках кожи и слизистых оболочках, а также в продуктах белковой деградации [143]. Было предложено их использование в качестве монотерапии при лечении инфекций в сочетании с обычными антибиотиками для синергических целей, иммуномодуляторами и нейтрализующими эндотоксинами [273]. При лечении больных ДЯС оценена эффективность нескольких противомикробных пептидов, включая низин, α -спиральный противомикробный декапептид KKVVFWVKFK (KSL-W), убиквицидин 29-41 (UBI 29-41), пексиганан (MSI-78) и бета-дефенсин-2 (hBD2). Однако только пексиганан (MSI-78) находится в клинической фазе разработки в качестве крема для местного применения [192,241,283,285]. В настоящее время нет пептидов, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Американской ассоциации диабета для применения в клинической практике [195,264,289].

1.4. Физические методы воздействия при лечении диабетических язв

Лазерная терапия

Низкоинтенсивная лазерная терапия (НИЛТ) предполагает использование света в виде светодиодов низкого уровня. Это лечение считается эффективным методом лечения при заживлении ран при правильном соблюдении определенных факторов, таких как потребляемая мощность, дозировка, время и интервал между сеансами. НИЛТ изменяет клеточную функцию, а также молекулярные и биохимические пути, что может привести к изменению формы

клеток, миграции и клеточной сигнализации. Эти изменения способствуют уменьшению воспалительной фазы, способствуя ангиогенезу и продукции компонентов внеклеточного матрикса, ускоряя процесс заживления [51,164]. Преимущество НИЛТ заключается в простоте проведения процедур у больных ДЯС [86,227].

Терапия отрицательным давлением

В последние десятилетия широкий интерес вызывает способ лечения острых и хронических ран при помощи отрицательного давления (NPWT – Negative Pressure Wound Treatment). Терапия отрицательным давлением (negative pressure wound therapy (NPWT), вакуум-терапия, vacuum-assisted closure (VAC), topical negative pressure treatment (TNP) – один из методов местного лечения, применяемый для стимуляции заживления ран [14,26,100]. Он используется как для первичного лечения хронических и осложненных ран, так и в дополнение к консервативной терапии или при подготовке раны к пластическому закрытию. В основе метода лежит использование закрытой, герметичной дренажной системы и специального насоса, поддерживающего отрицательное давление, в результате чего создаются оптимальные условия для скорейшего очищения и заживления раны. Данная методика в настоящее время широко и успешно применяется в лечении острых и хронических ран различного генеза, хотя патофизиологические основы данного метода до конца не ясны. В результате рандомизированных клинических испытаний было доказано, что на фоне вакуум-терапии раны при синдроме диабетической стопы заживали в 1.4 раза быстрее по сравнению со стандартным лечением и в 2.5 раза реже требовали проведения ампутаций [238]. Ряд исследований [76,127,238] продемонстрировали положительное влияние отрицательного давления на локальную микрогемодинамику. Так, в ходе изучения эффектов отрицательного давления на экспериментальных моделях, после применения давления 125 мм.рт.ст. в течение 5-7 минут было отмечено максимальное усиление кровотока, оцененное с помощью дуплексного сканирования. Область усиленного кровотока была больше самой раны и располагалась в радиусе более 3,5 см от

краев дефекта. Пятидесятипроцентное усиление кровотока сохранялось около 10 минут, после чего скорость кровотока становилась ниже исходного уровня. Был сделан вывод о целесообразности использования прерывистого режима VAC-терапии для улучшения кровоснабжения в ране [26]. По данным ряда авторов [76,100,188], лечение с применением вакуум-терапии значительно улучшает течение всех стадий раневого процесса благодаря многокомпонентному, статистически доказанному воздействию, которое проявляется удалением раневого отделяемого, ускорением бактериальной деkontаминации, поддержанием влажной среды, усилением местного микроциркуляторного кровообращения, снижением интерстициального отека, деформационно-клеточного эффекта, контракцией краев раны.

Ультразвуковая кавитация

Перспективным направлением местного хирургического лечения рецидивов язв и гнойно-некротических осложнений у больных с синдромом диабетической стопы является применение ультразвуковой кавитации [31,176]. Ультразвуковая кавитация обеспечивает бактерицидный и бактериостатический эффект, разрушает некротизированные ткани и фибрин, стимулирует микроциркуляцию, что способствует процессам очищения, репарации и регенерации.

Ультразвуковая кавитация как физический метод некрэктомии позволяет втрое снизить интраоперационную кровопотерю по сравнению с классическими методами иссечения нежизнеспособных тканей [60,96]. Основой терапевтического действия ультразвука является механическое очищение раны за счет дезинтеграции некротизированных тканей и ускорения их отторжения. В научных публикациях есть подтвержденные данные о снижении риска повторного нагноения, ускорении перехода из первой фазы раневого процесса во вторую, уменьшении сроков лечения [50,111]. В качестве преимуществ использования гидрохирургической обработки специалисты указывают на уменьшение числа повторных обработок, снижение времени выполнения некрэктомии, увеличение вероятности заживления раневых дефектов сложных

локализаций. В 40% клинических наблюдений использование метода позволяет добиться полного очищения от некротических масс за одну процедуру [96,176].

Озонотерапия

Медицинское использование озона (также известного как триатомный кислород и триоксиген) было начато в 19 веке. Основными механизмами воздействия озонотерапии принято считать бактерицидный, бактериостатический эффекты, ускорение очищения раны и ее эпителизации, стимуляцию регенеративных процессов, обезболивающее и антистрессовое воздействие, коррекцию иммунологических нарушений, детоксикацию, устранение регионарной гипоксии путем стимуляции цитохромоксидазы, сукцинатдегидрогеназы и дыхательных ферментов, повышение парциального напряжения кислорода на 8–18% в сравнении с исходным уровнем [115,135,311,338].

По данным литературы, применение медицинского озона способствует увеличению скорости заживления диабетических ран, подавляет патогенную микрофлору, стимулирует метаболические процессы, оказывает иммуномодулирующее действие [65,251].

Существует ряд проспективных рандомизированных клинических испытаний для проверки эффективности неинвазивного кислородно-озонового лечения при заживлении ран на ранней стадии лечения диабетических язв [93,115,311]. Согласно результатам клинического испытания, среднее время эпителизации диабетических язв составило 21 день [311].

1.5. Подходы к тканевой инженерии

Тканевая инженерия — это биомедицинская инженерная дисциплина, которая использует комбинацию клеток, факторов роста, материалов и подходящих биохимических и физико-химических факторов для восстановления, поддержания, улучшения или замены различных типов поврежденных биологических тканей [226]. В случае лечения больных ДЯС были разработаны новые повязки с живыми тканями, которые заменяют поврежденную кожу [131,153]. Считается, что их механизм действия

заключается в заполнении раны клетками и внеклеточным матриксом, вызывая таким образом экспрессию факторов роста и цитокинов, которые способствуют заживлению раны [5,49,83,313].

Факторы роста

Факторы роста представляют собой белки, которые могут стимулировать и активировать процесс клеточной пролиферации посредством активации ангиогенеза, транскрипции генов и других реакций, способствующих закрытию ран [223]. Экспериментальные исследования помогли выяснить функцию и эффективность отдельных цитокинов и факторов роста в восстановлении тканей ДЯС. К наиболее распространенным относятся следующие: эпидермальный фактор роста (EGF), который действует при стимуляции клеток эпидермиса и увеличивает пролиферацию фибробластов, тем самым увеличивая выработку коллагена в месте поражения [208,239]; фактор роста тромбоцитов (PDGF), который стимулирует фибробласты для образования эпителиальной ткани, хотя в кератиноцитах эффект не обнаружен [209]; фактор роста фибробластов (FGF) и бета-трансформирующий фактор роста (TGF- β), которые являются индукторами ангиогенеза; фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), мощный митоген для клеток эндотелия сосудов, который также может стимулировать ангиогенез. Эти факторы роста оценивали парентерально посредством их аппликации на поверхность язвы. Они способствуют заживлению язв при СД 1 - го и 2-го типа [146,147,294]. Что касается использования факторов роста в клинических испытаниях, то только EGF тестировался у пациентов с ДЯС, показывая высокую эффективность лечения [177]. Использование других факторов роста по-прежнему не рекомендуется из-за отсутствия научных данных о безопасности и преимуществах их использования.

Стволовые клетки

К типам клеток, используемых для заживления ран, относятся мезенхимальные стволовые клетки (МСК), обладающие потенциалом для многолинейной дифференцировки в нейрогенные, хондрогенные, адипогенные, остеогенные, миогенные и эндотелиальные клетки в присутствии специфичных

для дифференцировки факторов индукции; их относительно легко получить из различных источников тканей и размножить в культуре [38,249,268]. В нескольких исследованиях оценивали регенеративный потенциал МСК, полученных из костного мозга и пуповинной крови, при их внутримышечном, внутриартериальном и местном введении пациентам с ДЯС в клинических испытаниях. Результаты показали, что они могут ускорить закрытие раны, улучшить клинические параметры и улучшить заживление ДЯС [164]. Несмотря на многообещающие результаты доклинических исследований, а также их безопасность и эффективность при лечении ДЯС, соответствующий тип клеток и выбор между аутологичными или аллогенными МСК еще требует проведения дальнейших испытаний. Таким же образом МСК, полученные из жировой ткани, исследовали в сочетании с эксендином-4 для оценки их улучшающего эффекта на заживление диабетических ран в модели диабетических мышей. Результаты показали быстрое уменьшение размера раны по сравнению с контролем [287]. Предложенный механизм заживляющего действия МСК – это их паракринный эффект как на клеточную пролиферацию, так и на процесс ангиогенеза, а также регуляция локальной экспрессии мРНК некоторых факторов, участвующих в заживлении ран [230]. В литературе описано применение фибробластов и кератиноцитов по отдельности или в комбинации в качестве аллотрансплантатов или аутоотрансплантатов для лечения диабетических язв [109,204]. Известно, что эти клетки усиливают заживление ран путем синтеза нескольких факторов роста и основных компонентов внеклеточного матрикса дермального и эпидермального слоев кожи [323].

Биоматериалы

Биоматериалы, используемые в настоящее время в качестве матриц для заживления ран, можно классифицировать по их происхождению: природные или синтетические [3]. К числу натуральных матриц относятся коллаген [75,243], гиалуроновая кислота [331], фибрин [202], хитозан [261] и альгинат [297], которые рекомендуются из-за их легкой деградации и высокой биосовместимости. К синтетическим матрицам относятся полиакриловая

кислота (PAA) [198], полигликолевая кислота (PGA) [258], полимолочно-гликолевая кислота (PLGA) [288], поли(ε-капролактон) (PCL) [147], PCL-полиэтиленгликоль (PEG) [233], метакрилат желатина (GelMA) [119] и плюроника F-127 [224], которые рекомендуются для лечения ДЯС. Упомянутые выше биоматериалы используются в виде гидрогелей, бинтов, пен и пленок.

Заменители кожи человека

Использование заменителей кожи, сочетающих в себе факторы роста, клетки и/или биоматериалы, для лечения ДЯС широко применяется в клинической практике. Существует множество заменителей кожи, созданных с помощью тканевой инженерии. Механизм, с помощью которого они способствуют заживлению ран, зависит от их анатомической формы, основных компонентов и биоматериалов. Например: Dermagraft® , который обязан своим действием таким компонентам, как метаболически активные фибробласты, компоненты внеклеточного матрикса и биорассасывающийся синтетический каркас [185]; Apligraf®, заживляющий эффект которого является результатом выработки цитокинов и факторов роста, сходных со здоровой кожей человека [204]; Регранекс® –(бекаплермин), который имеет биологическую активность, аналогичную природному PDGF, и который, как было показано, способствует образованию грануляционной ткани и способствует заживлению ран [196]; а также AlloDerm® , который состоит из организованного бесклеточного дермального матрикса нормального коллагена, что позволяет регенерировать новую кожу человека и вызывает неоваскуляризацию [205]. Все эти продукты помогают восстанавливать кожу, и их основные преимущества включают возможность добавления факторов роста и лекарств, таких как антибиотики и противовоспалительные средства, для достижения адекватного заживления ран. Однако необходимо учитывать высокую стоимость препаратов [252].

1.6. Роль факторов роста и провоспалительных цитокинов в патогенезе раневого процесса

Факторы роста впервые были открыты вследствие их способности стимулировать митозы клеток в культуре без сыворотки. Как теперь

установлено, они играют роль в клеточном делении, миграции, дифференциации, протеиновой экспрессии и продукции энзимов. Факторы роста могут оказывать эффект на клетки-мишени в виде паракриновой, аутокриновой, интеркриновой (действуя внутри клетки, которая продуцирует их) или эндокриновой манере [46,83,139,172,309]. Почти все они являются пептидами, которые связываются с клетками-мишенями посредством высокоаффинной клеточной поверхности, на которой расположены рецепторы протеинов. Рецепторные связи обуславливают внутриклеточные реакции, которые, однако, до конца не выяснены. Многие факторы роста инициируют внутриклеточное фосфорилирование фрагментов тирозина в белок. Активация клеточного рецептора внутриклеточными киназами может также активировать G протеины (гуанин нуклеотидный регулятор протеинов) и, в свою очередь, активировать протеинкиназу C. В свою очередь, активация протеинкиназы C может способствовать внутриклеточному притоку кальция. Конечным результатом протеиновой энзиматической активации является нарушение генной экспрессии, ответственной за белковый синтез и клеточную пролиферацию. Факторы роста потенцируют заживление ран, стимулируя ангиогенез и клеточную пролиферацию, влияя на продукцию и деградацию экстрацеллюлярного матрикса, и одновременно являются хемоаттрактантами для лейкоцитов, моноцитов и фибробластов [240,291,315,320].

Имеется семь главных семейств факторов роста: эпидермального фактора роста (EGF), трансформирующего фактора роста-бета (TGF β), инсулиноподобного фактора роста (IGF), тромбоцитопродуктивного фактора роста (PDGF), фактора роста фибробластов (FGF), интерлейкины (ILs) и колониестимулирующего фактора (CSF). Хронические раны содержат различные факторы роста, которые играют решающую роль в исходных фазах раневого заживления у больных с СДС [2,13,218,276]. PDGF, например, освобождаются из тромбоцитов, вскоре после тромбоза сосудов и достижения гемостаза. Процессы в начале раневого заживления отражают точный баланс

между протеолитической активностью и синтезом матрикса, что приводит к неосложненному и быстрому раневому процессу эпителизации [44,80,117,281].

Понимание нарушения равновесия факторов роста в хронических ранах может позволить использовать их в лечении данного вида ран. Раневое заживление происходит при контролируемой репликации специализированных клеток [67,79,170,183]. Жидкость, собранная из хронических ран, уменьшает синтез ДНК в культуре фибробластов. D.M. Cooperetal. количественно продемонстрировали, что в хронических ранах снижен уровень PDGF, EGF и TGF β в сравнении с острыми ранами. Раневые протеиназы могут нейтрализовать эффект факторов роста, присутствующих в хронической ране [18,58,87,89,220]. Для того чтобы факторы роста оказывали положительное влияние на раневое заживление, необходимо присутствие минимальной критической концентрации физиологически активного гормона в ране [305,307,329,333]. Если факторы роста продуцируются недостаточно или быстро метаболизируются, раневое заживление будет нарушаться. Все эти факторы должны рассматриваться, когда планируются исследования по изучению влияния факторов роста на заживление ран [28,306,325]. Кроме того, надо учитывать присутствие различных компонентов в разных ранах. Найти сравнимые популяции пациентов с ранами довольно сложно. В связи с этим, проведение рандомизированных, проспективных, плацебо-контролируемых испытаний с применением факторов роста трудно осуществимо.

В ряде исследований оценивался эффект влияния экзогенно внесенных факторов роста на заживление ран [277,301,304,330]. Одно из первых исследований было выполнено D.R. Knightonetal., которые применяли аутологичную смесь, полученную из тромбоцитов, содержащую PDGF, TGF- β , PDAF, PF4, производный из тромбоцитов эпидермальный фактор роста и другие неизвестные факторы. Результаты исследования показали ускорение раневого заживления по сравнению с контролем. Считается, что интерлейкины активируют макрофаги, гранулоциты и моноциты, а также стимулируют секрецию других факторов роста. Однако клиническое изучение IL-1 не

показало какого-либо ускорения раневого заживления по сравнению с плацебо-лечеными пациентами. Для лечения язв на почве венозной недостаточности применяли EGF и TGF β [2,13,122,134].

Несмотря на возрастающее число клинических исследований, демонстрирующих положительный эффект от местного применения факторов роста, сами по себе факторы роста не способствуют заживлению ран [179,194,306,327]. Факторы роста являются своеобразными локальными стимуляторами процесса раневого заживления, способствующими преодолению ингибирующего действия различных неблагоприятных воздействий [306,308]. Изучение раневого заживления фетальных тканей помогает объяснить некоторые наблюдения, сделанные по отношению к хроническим ранам. Фетальные раны имеют малую тенденцию к рубцобразованию, и в них не образуется заметного количества грануляционной ткани. Интересно, что поврежденные фетальные ткани не содержат заметных количеств TGF β 1, тогда как раны взрослых содержат данную изоформу в избытке [122, 134, 229,339]. Считается, что факторы роста семейства TGF в первую очередь ответственны за образование гипертрофического рубцобразования, особенно изоформы β 1 и β 2. Содержание коллагенового гидроксипролина также уменьшается. На модели ран у грызунов установлено, что добавление антител к воспалительным цитокинам TNF α и IL-1 способствует уменьшению образования рубцовых контрактур. Целью этих исследований была разработка методов, способствующих нормальному раневому заживлению при помощи использования раневых факторов роста, одновременно ингибируя чрезмерное формирование рубцовой ткани [299,303,317]. Несмотря на первичное закрытие раны, возможны отклонения от нормального процесса заживления в сторону его хронизации, обусловленного фибропролиферативными расстройствами [4]. Эти отклонения характеризуются чрезмерным отложением коллагена либо чрезмерной продукцией коллагена, протеогликанов и фибронектина, а также нарушением процесса деградации коллагенового структурного матрикса. Повышенное натяжение при ушивании раны, повреждая внутриклеточный цитоскелет

фибробластов, приводит к возрастанию генной транскрипции TGF- β и других матричных протеинов и цитокинов и таким образом может способствовать гипертрофическому рубцеванию. Ненормальный и чрезмерно сформированный матрикс способствует образованию гипертрофического рубца.

Цитокины – белки, осуществляющие передачу сигналов между различными клетками организма [92,174,218]. У человека идентифицировано более ста различных цитокинов, и постоянно появляются сообщения об открытии новых. Цитокины воздействуют на клетку, связываясь со специфическими рецепторами на цитоплазматической мембране и вызывают каскадную реакцию, ведущую к индукции, усилению или подавлению активности ряда регулируемых ими генов. Цитокины являются наиболее универсальным классом внутри- и межтканевых регуляторных веществ [99,103,136,186,213]. Они представляют собой гликопротеиды, которые в очень низких концентрациях оказывают влияние на реакции роста, пролиферации и дифференцировки клеток. Действие цитокинов обусловлено наличием рецепторов к ним на плазмолемме клеток-мишеней. Клетки различных тканей обладают большим количеством рецепторов к разнообразным цитокинам (от 10 до 10000 на клетку), эффекты которых нередко взаимно перекрываются, что обеспечивает высокую надёжность функционирования этой системы внутриклеточной регуляции [189,265,270]. Наиболее важными закономерностями функционирования системы цитокинов являются локальность действия, индуцибельность, избыточность, взаимосвязанность и взаимодействие ее компонентов [171,189,256]. Для цитокинов характерен сложный сетевой характер функционирования. Один цитокин может обладать несколькими эффектами, разные цитокины – одинаковыми эффектами. Цитокин может воздействовать на ряд клеток и тканей организма. В большинстве случаев клетка организма является мишенью нескольких цитокинов. Один цитокин может регулировать образование и функционирование другого. Обычно отдельные цитокины служат составляющими факторами, образующими целый комплексный цитокиновый сигнал [274,309,324].

Цитокины – ключевые гуморальные факторы воспаления, необходимые для реализации защитных функций врожденного иммунитета [97,259]. В развитии воспаления участвуют три группы цитокинов: воспалительные или провоспалительные цитокины, хемокины, колониестимулирующие факторы, а также функционально связанные факторы IL-12 и IFN γ [279]. Цитокинам также принадлежит важная роль в подавлении и сдерживании воспалительной реакции. К противовоспалительным цитокинам относят трансформирующий фактор роста в (TGF β), IL-10 [215]; часто роль противовоспалительного фактора играет IL-4 [118,149].

Выделяют 3 основных представителя группы провоспалительных цитокинов: TNF α , IL-1 и IL-6. Эти цитокины продуцируются в основном активированными моноцитами и макрофагами преимущественно в очаге воспаления. Провоспалительные цитокины могут вырабатываться также нейтрофилами, дендритными клетками, активированными В-, NK- и Т-лимфоцитами [91,267]. В очаге проникновения патогенов цитокины первыми начинают синтезировать немногочисленные местные воспалительные макрофаги. Затем в процессе эмиграции лейкоцитов из кровотока численность клеток-продуцентов возрастает и их спектр расширяется. В частности, к синтезу провоспалительных цитокинов подключаются стимулированные продуктами микроорганизмов и факторами воспаления эпителиальные, эндотелиальные, синовиальные, глиальные клетки, фибробласты.

Гены цитокинов относят к индуцибельным. Естественные индукторы их экспрессии – патогены и их продукты, действующие через TLR и другие патогенраспознающие рецепторы. Классический индуктор – бактериальный ЛПС. В то же время некоторые провоспалительные цитокины (IL-1, TNF α) сами способны индуцировать синтез провоспалительных цитокинов [279,319,322,325,330].

Провоспалительные цитокины синтезируются и секретируются достаточно быстро, хотя кинетика синтеза различных цитокинов этой группы неодинакова [329]. В типичных случаях (быстрый вариант) экспрессию их мРНК отмечают

через 15-30 мин после индукции, появление белкового продукта в цитоплазме – через 30-60 мин, содержание его во внеклеточной среде достигает максимума через 3-4 ч. Синтез цитокинов конкретной клеткой продолжается довольно непродолжительное время – обычно немногим больше суток. Не весь синтезируемый материал секретируется. Некоторое количество цитокинов экспрессируется на поверхности клетки или содержится в цитоплазматических гранулах. Выброс гранул могут вызывать те же активирующие сигналы, что и продукция цитокинов. Это обеспечивает быстрое (в течение 20 мин) поступление цитокинов в очаг поражения [148,154,155,160].

Провоспалительные цитокины выполняют многие функции [211]. Основная их роль – «организация» воспалительной реакции. Один из наиболее важных и ранних эффектов провоспалительных цитокинов – усиление экспрессии молекул адгезии на эндотелиальных клетках, а также на самих лейкоцитах, что приводит к миграции в очаг воспаления лейкоцитов из кровяного русла [172,340]. Кроме того, цитокины индуцируют усиление кислородного метаболизма клеток, экспрессии ими рецепторов для цитокинов и других факторов воспаления, стимуляцию выработки цитокинов, бактерицидных пептидов и т.д. [102,165,212]. Провоспалительные цитокины оказывают преимущественно местное действие. Попадание избыточно секретируемых провоспалительных цитокинов в циркуляцию способствует проявлению системных эффектов воспаления, а также стимулирует выработку цитокинов клетками, отдаленными от очага воспаления [159,169,175]. На системном уровне провоспалительные цитокины стимулируют продукцию белков острой фазы, вызывают повышение температуры тела, действуют на эндокринную и нервную системы, а в высоких дозах приводят к развитию патологических эффектов (плоть до шока, подобного септическому).

Фактор некроза опухоли (ФНО α или TNF α) – представитель другого семейства иммунологически значимых белков [4,94,173]. Это провоспалительный цитокин с широким спектром активности. Он синтезируется в виде функционально активной мембранной молекулы про-TNF α с

молекулярной массой 27 кДа, представляющей трансмембранный белок II типа (т.е. его N-концевая часть направлена внутрь клетки). В результате протеолиза во внеклеточном домене формируется растворимый мономер с молекулярной массой 17 кДа. Мономеры TNF α спонтанно формируют тример с молекулярной массой 52 кДа, представляющий основную форму этого цитокина. Тример имеет колоколовидную форму, причем субъединицы соединяются своими C-концами, содержащими по 3 участка связывания с рецептором, тогда как N-концы друг с другом не связаны и не участвуют во взаимодействии с рецепторами, а следовательно, и в выполнении цитокином своих функций). При кислых значениях pH TNF α приобретает α -спиральную структуру, что обуславливает изменение некоторых его функций, в частности, усиление цитотоксичности. TNF – прототипический член большого семейства молекул суперсемейства TNF. К нему относят лимфотоксины, а также многие мембранные молекулы, участвующие в межклеточных взаимодействиях.

Основные продуценты TNF α – моноциты и макрофаги. Его секретируют также нейтрофилы, эндотелиальные и эпителиальные клетки, эозинофилы, тучные клетки, В- и Т-лимфоциты при их вовлечении в воспалительный процесс [32,97,308]. TNF α выявляют в кровотоке раньше других провоспалительных цитокинов – уже через 20-30 мин после индукции воспаления, что связано со «сбрасыванием» клетками мембранной формы молекулы, а возможно также с выбросом TNF α в составе содержимого гранул.

Реализация функций TNF α связана преимущественно с действием через TNFR1 (от tumor necrosis factor receptor I) – выключение соответствующего гена приводит к развитию тяжелого иммунодефицита, тогда как последствия инактивации гена TNFR1 незначительны. На пике воспалительной реакции рецепторы TNF α могут «сбрасываться» с мембраны и выходить в межклеточное пространство, где они связывают TNF α , оказывая противовоспалительное действие [52,113]. В связи с этим растворимые формы TNFR используют при лечении хронических воспалительных заболеваний. При этом оказалось, что

препарат на основе растворимого TNFRI оказался клинически наиболее эффективным.

Как и IL-1, TNF α усиливает экспрессию молекул адгезии, синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов, белков острой фазы, ферментов фагоцитарных клеток и т.д. Наряду с IL-1 TNF α участвует в формировании всех основных местных, а также некоторых системных проявлений воспаления [59,210,214]. Он активирует эндотелиальные клетки, стимулирует ангиогенез, усиливает миграцию и активирует лейкоциты. TNF α в большей степени, чем IL-1, влияет на активацию и пролиферацию лимфоцитов. В комбинации с IFN γ TNF α индуцирует активность NO-синтазы фагоцитов, что значительно усиливает их бактерицидный потенциал. TNF α стимулирует пролиферацию фибробластов, способствуя заживлению ран [97,113,308]. При повышенной локальной выработке TNF α преобладают процессы повреждения тканей, проявляющиеся развитием геморрагического некроза. Помимо этого, TNF α подавляет активность липопротеиновой липазы, что ослабляет липогенез и приводит к развитию кахексии.

Повышенное высвобождение TNF α и его накопление в циркуляции, например при действии высоких доз бактериальных суперантигенов, вызывает развитие тяжелой патологии – септического шока. Таким образом, действие TNF α , направленное на выполнение защитной функции и поддержание гомеостаза, может сопровождаться тяжелыми токсическими эффектами (местными и системными), нередко служащими причиной смерти.

IL-6 – провоспалительный цитокин широкого действия [187,286]. Он также служит прототипическим фактором семейства цитокинов, включающего, кроме собственно IL-6, онкостатин М (OSM), лейкемия-ингибирующий фактор (LIF), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF), кардиотропин-1 (СТ-1), а также IL-11 и IL-31. Молекулярная масса IL-6 – 21 кДа. IL-6 вырабатывают моноциты и макрофаги, эндотелиальные, эпителиальные, глиальные, гладкомышечные клетки, фибробласты, Т-лимфоциты типа Th2, а также многие опухолевые клетки. Выработка IL-6 миелоидными клетками индуцируется при

взаимодействии их TLR с микроорганизмами и их продуктами, а также под влиянием IL-1 и TNF α . При этом в течение 2 ч содержание IL-6 в плазме крови возрастает в 1000 раз [150,157,161,162,163].

Рецепторы всех факторов семейства IL-6 содержат общий компонент – цепь gp130, присутствующую практически на всех клетках организма. Второй компонент рецептора индивидуален для каждого цитокина. Специфическая цепь рецептора IL-6 (gp80) отвечает за связывание этого цитокина, тогда как gp130 участвует в передаче сигнала, поскольку связана с тирозинкиназами Jak1 и Jak2. При взаимодействии IL-6 с рецептором запускается следующая последовательность событий: IL-6-мономер взаимодействует с цепью gp80, происходит димеризация комплексов (2 молекулы цитокина – 2 цепи gp80), после чего к комплексу присоединяется 2 цепи gp130, что приводит к фосфорилированию Jak-киназ. Цепь gp80 легко «смывается» с клетки; в свободной форме она взаимодействует с цитокином, инактивируя его, т.е. выступает в качестве специфического ингибитора IL-6.

IL-6 участвует в индукции практически всего комплекса местных проявлений воспаления. Он влияет на миграцию фагоцитов, усиливая выработку СС-хемокинов, привлекающих моноциты и лимфоциты, и ослабляя продукцию хемокинов, привлекающих нейтрофилы. Провоспалительные эффекты IL-6 выражены слабее, чем у IL-1 и TNF α , в противоположность которым он не усиливает, а угнетает выработку провоспалительных цитокинов (IL-1, TNF α и IL-6) и хемокинов клетками, вовлеченными в воспалительный процесс. Таким образом, IL-6 сочетает свойства про- и противовоспалительных цитокинов и участвует не только в развитии, но и в ограничении воспалительной реакции.

IL-6 – основной фактор, индуцирующий в гепатоцитах экспрессию генов белков острой фазы. IL-6 влияет на различные этапы гемопоэза, в том числе на пролиферацию и дифференцировку стволовых клеток. Он служит ростовым фактором незрелых плазматических клеток, существенно усиливая гуморальный иммунный ответ. IL-6 влияет также на Т-лимфоциты, повышая активность цитотоксических Т-клеток [235].

Основной изоформой, секретируемой клетками иммунной системы, является TGF β 1. Все TGF β состоят из 112 аминокислотных остатков. Структура TGF β 2 имеет 50% гомологию с TGF β 1 на протяжении первых 20 аминокислотных остатков и 85% – для фрагмента 21-36. Различий в функциональной активности между TGF β 1 и - β 2 не обнаружено. TGF β продуцируется многими типами клеток и тканей: активированными Т-лимфоцитами и макрофагами, тромбоцитами, почками, плацентой [104,232,290]. Фактор продуцируется в неактивной форме, содержащей наряду с основным димером фрагменты дополнительных цепей молекулы-предшественницы. Активация происходит в форме отщепления этих фрагментов с помощью протеиназ (плазмина, катепсина и др.). Мишенями TGF β служат также разнообразные клетки, поскольку экспрессия его высокоаффинного рецептора широко распространена [27,165,310]. При действии TGF β на иммунную систему преобладают ингибирующие эффекты. Фактор подавляет гемопоэз, синтез воспалительных цитокинов, ответ лимфоцитов на IL-2, -4 и -7, формирование цитотоксических NK- и Т-клеток. В то же время он усиливает синтез белков межклеточного матрикса, способствует заживлению ран, оказывает анаболическое действие. В отношении полиморфоядерных лейкоцитов TGF β выступает как антагонист воспалительных цитокинов. Выключение гена TGF β приводит к развитию фатальной генерализованной воспалительной патологии, в основе которой лежит аутоиммунный процесс. Таким образом, он является элементом обратной регуляции иммунного ответа и, прежде всего, воспалительной реакции [45,295]. В то же время TGF β важен и для развития гуморального ответа: он переключает биосинтез иммуноглобулинов на IgA-изотип [63,70]. Считается, что факторы роста семейства TGF в первую очередь ответственны за гипертрофическое рубцеобразование, особенно изоформы β 1 и β 2. Изоформа TGF β 3 недавно описана и может оказывать ингибирующее действие на образование рубца, являясь природным антагонистом TGF β 1 и TGF β 2 изоформ. TGF β регулирует экспрессию β -интегрновых рецепторов, определяя взаимодействие клеток с

компонентами внеклеточного матрикса. TGF β ингибирует многие функции лимфоцитов: пролиферацию Т-клеток, созревание CD8⁺ – Т-лимфоцитов, ингибируют активность макрофагов, угнетает выработку провоспалительных цитокинов, а также ИЛ-2, ИЛ-4 и ИНФ γ . Наряду с усилением синтеза цитокинов в ране наблюдается снижение синтеза белка p53, угнетающего клеточное деление. На заключительном этапе заживления раны синтез цитокинов прекращается, а синтез белка p53 снова усиливается.

Полиморфизм в генах воспалительного и иммунного ответа в основном связан с изменением функционирования белка, которое может затруднить распознавание бактерий иммунной системой и изменение уровня ответа цитокинов. TLR представляют собой семейство эволюционно высококонсервативных трансмембранных белков, которые в основном экспрессируются на поверхности иммунных клеток и служат рецепторами распознавания образов у млекопитающих [95,113]. Они играют ключевую роль в иммунных реакциях путем регулирования воспалительных реакций и активации адаптивного иммунного ответа для устранения инфекционных патогенов и клеточного обломков [16,217].

Изучение процесса раневого заживления в настоящее время находится на подъеме [178,271,336]. Углубление понимания биологии заживления хронических ран, применение факторов роста, ингибиторов и активаторов энзимов вселяет надежду на успех лечения данной категории пациентов.

1.7. Возможности прогнозирования в медицинской практике

Прогноз медицинский (греч. prognosis) – предвидение вероятного возникновения заболевания или предсказание характера течения и исхода болезни, основанное на знании закономерностей развития патологических процессов.

Значение прогноза определяется задачами, связанными с профилактикой, лечением и реабилитацией больных. Вся лечебно-диагностическая и профилактическая деятельность врача пронизана прогностическими предположениями и выводами. Врачу необходимо предвидеть опасность

заболевания для здоровья и жизни не только больного, но и окружающих, эффект лечения и вероятные осложнения тех или иных лечебных мероприятий, возможность утраты больным трудоспособности, чтобы вовремя принять меры для ее сохранения. Своевременное предвидение осложнений заболевания, побочных действий лекарственных препаратов, развития рецидивов болезни под влиянием определенных факторов окружающей среды является неременным условием успешной терапии и вторичной профилактики. Кроме того, соответствие действительного течения заболевания предсказанному косвенно подтверждает правильность диагноза.

Проблема логической структуры прогностического (как и диагностического) мышления разработана все еще крайне недостаточно. Ряд исследователей считают, что логике прогностических умозаключений более соответствует индуктивная или гипотетико-индуктивная логическая структура [211]. Между тем не вызывает сомнений, что, опираясь на высокую достоверность современной диагностики и современный уровень знаний о закономерностях развития патологических процессов, врач при построении прогноза делает заключения, как правило, идя от общего к частному, от причины к следствию. При этом прогностические умозаключения строятся на основе правильного условно-категорического или категорического силлогизма.

В клинической медицине могут быть выделены четыре класса (типа) прогностических задач:

- 1) прогнозирование состояния здоровья здоровых людей в обстановке воздействия на них патогенных факторов, в частности в экстремальных ситуациях;
- 2) прогнозирование риска заболевания;
- 3) прогнозирование течения болезни;
- 4) прогнозирование исхода болезни.

Две последние задачи тесно связаны и обычно рассматриваются, и решаются параллельно практически в каждом случае заболевания.

Прогноз возможности заболевания связан с учетом этиологии и патогенеза определенных болезней, воздействия вредных бытовых и производственных факторов, индивидуальных особенностей человека (перенесенные ранее заболевания, наследственность, вредные привычки и др.) [9,109]. Так, проживание человека в местности, где почва и вода характеризуются дефицитом йода, позволяет предвидеть развитие у него эндемического зоба. Наличие у ближайших родственников по отцовской и материнской линии сахарного диабета, а также рождение женщиной ребенка большого веса позволяют сформулировать представление о предиабете, т.е. состоянии, грозящем со значительной долей вероятности перейти в латентный или явный диабет. Предрасположенность к некоторым заболеваниям оценивается путем выявления так называемых факторов риска.

Широкое распространение получила такая форма прогнозирования возможности заболевания, как медико-генетическое консультирование (точнее, медико-генетическое прогнозирование), позволяющее количественно определить риск рождения ребенка с той или иной наследственной аномалией не только в больных, но и в здоровых семьях — так называемые спорадические случаи, наследование которых в родословной проследить не удастся.

Прогноз течения и исхода лечения — наиболее распространенный в практической медицине вид медицинского прогнозирования [11,216]. Различают прогноз болезни (общий прогноз, прогноз нозологической формы) и прогноз больного (индивидуальный прогноз). Последний основывается на прогнозе болезни, но строится с учетом индивидуальных особенностей больного (возраста, иногда пола, индивидуальной иммунореактивности и др.).

Прогноз должен отвечать на целый ряд важных вопросов: закончится ли болезнь смертью и когда или больной будет жить (прогноз сохранения жизни, или витальный прогноз — *prognosisquoadvitam*), наступит ли выздоровление (прогноз выздоровления — *prognosisquoadvalitudinem*), будет ли выздоровление полным или болезнь примет рецидивирующее течение, восстановится ли трудоспособность пациента (и в какой степени) или он будет инвалидом

(социально-трудовой прогноз), сколько времени проживет больной (прогноз длительности жизни – *prognosisquoadlongitudinemvitalis*).

Прогресс фармакологии и хирургии позволяет более оптимистично, чем раньше, оценивать ближайший прогноз даже безусловно смертельных заболеваний. При целом ряде тяжелых инвалидизирующих заболеваний (сахарном диабете, ревматоидном артрите, хронической недостаточности надпочечников) жизненный и трудовой прогноз в значительной степени зависит от систематического проведения медикаментозной терапии, адекватного лечения осложнений или их профилактики.

Одним из быстро прогрессирующих направлений в клинической медицине, несомненно, является прогнозирование заболеваний с помощью специальных шкал. Более точная оценка развития заболевания позволяет эффективнее использовать лечебные ресурсы, включая хирургическое лечение и дорогостоящие высокотехнологичные устройства [34,54,131].

Соответствие наблюдаемых и предсказанных исходов (калибровка), оценивается обычно с помощью критерия согласия Хосмера-Лемешева (χ^2) – чем ниже, тем лучше. Для решения вопроса о возможности применения шкалы последняя должна быть валидизирована. Проверка пригодности шкалы проводится независимыми исследователями на других группах пациентов в разных регионах проживания, а не только на части пациентов данного исследования, не включенных в группу отбора прогностических факторов. Особенно важна проверка прогностических возможностей у пациентов разного возраста, пола, расы, при распространенных коморбидных заболеваниях [42,53,185].

Результаты оригинального исследования сравнивают с результатами проверяющего исследования. Обычно статистика независимых исследований ниже, но именно на эту оценку и следует ориентироваться. Применение недостаточно проверенной шкалы может привести к существенным ошибкам.

Деление шкал на диагностические и лечебные порой весьма условно, так как выделение групп риска определяет дальнейшую тактику лечения.

Часто механическое использование шкал с принятием решения на основании только числа баллов приводит к выбору неоптимального лечения.

Выбор диагностической и лечебной программы должен учитывать прогноз заболевания [66,121,151].

Современная диагностика заболеваний включает дорогостоящие и высокочувствительные тесты, часто недостаточно специфичные с заметной долей ложноположительных результатов. Последние требуют дополнительного обследования и нередко сопровождаются избыточным лечением.

В этих условиях существенно повышается роль прогнозирования заболевания, позволяющая ранжировать пациентов в зависимости от степени риска и более адекватно назначать активное дорогостоящее и не всегда безопасное медикаментозное хирургическое лечение, рационально использовать ограниченные ресурсы системы здравоохранения [98,112].

Предикторы, включенные в шкалы, имеют определенные критерии, которые необходимо учитывать при работе со шкалой. Бывает, что один из критериев шкалы недоступен, поэтому при необходимости недостающее значение обычно заменяют нормальным, что может привести к снижению точности классификации.

Одним из принципиальных ограничений шкал является невозможность индивидуальной оценки, т.к. шкалы могут лишь дать вероятностную оценку риска для группы пациентов с данными уровнями факторов риска. У каждого пациента событие может произойти либо не произойти. Например, если шкала прогнозирует риск смерти в 20%, неясно, данный пациент один из 20 в группе из 100 человек, которые умрут, или он один из 80, которые выживут. Выраженность прогностического критерия шкалы может сильно варьировать у разных пациентов.

На прогноз заболевания могут влиять многие факторы, которые игнорировались при разработке прогностической шкалы, например, семейный анамнез, раса, получаемая терапия, состояние психики (недавний стресс,

депрессивное расстройство), метеорологические и гелиогеофизические факторы и т.д.

Заболевания развиваются во времени, и, соответственно, меняются симптомы и прогноз. Поэтому рекомендуется повторное использование шкал для уточнения оценок. В то же время распространенным недостатком большинства шкал является отсутствие динамического режима оценок и длительный интервал прогноза, который не дает врачу точного времени развития неблагоприятного события.

Факторы риска, используемые в шкалах, часто бывают неспецифическими и могут влиять на прогноз других заболеваний. Например, возраст, артериальное давление, дисфункция почек, класс сердечной недостаточности включены во многие шкалы. Поэтому шкалы, разработанные для одного заболевания, могут оказаться полезными и для других болезней.

Представляется перспективной разработка неспецифических моделей, позволяющих прогнозировать широкий класс заболеваний [33,71,77].

Шкалы не обладают 100% точностью и имеют немало ограничений. Именно в этом направлении развиваются новые концепции (персонифицированная, точная, пациент-ориентированная медицина), позволяющие преодолеть недостатки, присущие медицине, основанной на доказательствах, полученных в исследованиях больших групп пациентов.

На течение заболевания может влиять огромное число факторов как средовых, так и самого организма. Влияние разных факторов может быть скрыто многочисленными шумовыми воздействиями, и форму зависимости трудно определить даже приблизительно. В этих случаях традиционные линейные статистические методы оказываются недостаточно точными.

Вместе с тем использование не отобранной когорты пациентов, а большого массива разнородных данных может снизить точность классификации рисков и близость прогноза к частоте реальных событий.

Прогностические шкалы помогают практикующим врачам оценить возможные риски развития неблагоприятных событий для групп пациентов со

сходными условиями, на этой основе принимать более эффективные диагностические лечебные решения с обязательным учетом позиции пациента, имеющихся ресурсов здравоохранения, особенностей болезни, коморбидности и средовых факторов.

Современные научные данные в изучении раневого процесса заставляют обратить пристальное внимание на изучение факторов роста, более тщательно детализировать течение раневого процесса.

Таким образом, выделение наиболее значимых прогностических признаков и построение математической модели позволяет выбрать оптимальную тактику лечения.

У 85% больных ДЯС является причиной ампутаций нижних конечностей. Они часто приводят к таким осложнениям, как инфекции, остеомиелит и абсцессы. ДЯС влияют на физические, психологические, социальные аспекты пациентов и качество их жизни. Лечение больных с ДЯС требует мультидисциплинарного подхода. Терапия ДЯС должна включать в себя контроль уровня гликемии, разгрузку стопы, восстановление кровотока, санацию раны и антибактериальную терапию. Ортопедическая обувь снижает рецидив язвы. Методы реваскуляризации, использованные для улучшения процесса заживления ишемических язв, показали эффективность в уменьшении боли и увеличении артериального кровотока в ишемизированной конечности, а также в снижении риска ампутации. Тем не менее, необходимы дополнительные исследования, чтобы определить группы пациентов, для которых эти методы лечения показаны. АМП являются мощными агентами против широкого спектра патогенов, включая вирусы, грибки и устойчивые к антибиотикам бактерии, и обладают противоопухолевой активностью, что представляет собой альтернативу традиционной терапии антибиотиками, а также позволяют снизить риск ампутации.

Таким образом, благодаря техническому прогрессу был разработан ряд биологических лечебных продуктов, помогающих в процессе заживления ДЯС. Тканевая инженерия представляет собой новое лечение ДЯС, включая

использование повязок для ран, разработанных с использованием живых тканей, которые функционируют как заменители кожи. Эти заменители кожи используют живые клетки, такие как фибробласты, кератиноциты и стволовые клетки, отдельно или в сочетании с внеклеточным матриксом и факторами роста. Несмотря на то, что использование новых методов лечения является дорогостоящим, эффективность их подтверждается клиническими испытаниями и перспективным применением их в будущем.

Подытоживая литературный обзор, необходимо отметить следующие моменты. Несмотря на определенные успехи и достижения в изучении патогенеза СДС, механизмы репарации при этом заболевании изучены недостаточно. Поскольку процессы ангиогенеза, иммуно- и тромбореактивности обеспечиваются регуляторными влияниями эндогенных факторов роста, цитокинов и хемокинов, изучение их реакции на усиление кровоснабжения, течение раневого процесса и репарации как звеньев патогенеза СДС представляет большой интерес. Исследование содержания маркера ангиогенеза актуально и с позиций его возможного использования как новой терапевтической мишени, так как невысокая эффективность лечения СДС, безусловно, требует поиска альтернативных стратегий его лечения.

Решение данной проблемы невозможно было без определения роли факторов роста, цитокинов в патофизиологических процессах репарации язвенных дефектов при СДС, которые являются маркерами прогнозирования при применении различных лечебных программ.

Вместе с тем недостаток доказательных данных и опыта применения тех или иных подходов в условиях здравоохранения стал побудительным мотивом для проведения данного исследования.

Поэтому проводимое нами исследование является актуальным и значимым для практического здравоохранения.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Нами были изучены результаты лечения 782 больных с синдромом диабетической стопы, которые находились на стационарном лечении в хирургических отделениях ГБУ «ЦГКБ №9 г.Донецка», ГБУ «ГКБ №21 г. Донецка, отделении сосудистой хирургии ДОКТМО в период с 2014 по 2022гг.

Все больные были разделены на четыре группы. Первую группу составили 134 (17,1(1,3)%) пациента, для лечения которых применялась система VAC-дренирования. Во вторую группу вошли 142 (18,1(1,4)%) пациента, у которых применялась ультразвуковая кавитация во время хирургической обработки ран. Третью группу составили 254 (32,5(1,7)%) пациента, для лечения которых применяли лазеротерапию, озонотерапию. В четвертую группу (контрольную) вошли 252 (32,2 (1,7)%) пациента, для лечения которых применялись стандартные схемы лечения (системная антибактериальная, гипогликемическая терапия, лечение сопутствующей соматической патологии, перевязки с интерактивными повязками без применения методов физического воздействия на раневой процесс). По знаковому критерию Z группы больных между собой сопоставимы. Летальные исходы в работе не учитывались. Причинами смерти послужили сепсис, некорректируемая сопутствующая патология, послеоперационные осложнения.

Критериями включения в исследования были: наличие у пациентов сахарного диабета; синдрома диабетической стопы; раневого или язвенного дефекта на стопе; совершеннолетие пациентов; психическое здоровье. Критериями исключения являлись: здоровые люди; отсутствие раневого или язвенного дефекта на стопе; дети и подростки; психические заболевания.

Во всех группах больных проводилось проспективное рандомизированное исследование. Методология исследования построена на основе модели «случай-контроль». Все пациенты получали своевременную (с момента поступления)

специализированную хирургическую помощь и консервативное лечение. У больных всех групп операции на сосудах (стентирование, шунтирование сосудов и т.д.) выполнялись по показаниям и своевременно. Учитывая непараметрический характер распределения отобранных данных (тест Шапиро-Уилка – $p < 0,01$), описательная статистика и граничные значения показателя длительности стационарного лечения для указанной выборки могут быть представлены следующим образом: $Me (Q1; Q3)$. В работе была предпринята попытка осмыслить полученные результаты лечения больных в разных группах, выделить наиболее значимые факторы, влияющие на исход лечения, оценить роль факторов роста и цитокинов на фоне применения различных лечебных программ. На основании полученных результатов исследования были созданы прогностические модели, позволяющие предположить с высоким процентом вероятности исход лечения, заживление диабетических язв и развитие послеоперационных осложнений.

2.2. Материал исследования

В исследуемых группах средний возраст больных составил $65,7 \pm 8,2$ лет. По гендерному признаку больные распределились следующим образом (Таблица 2.1):

Таблица 2.1- Распределение больных по гендерному признаку (абс./% , $P \pm m$)

Группы больных	Мужчины, n=412	Женщины, n=370
Первая группа	70 / $17,0 \pm 1,8$ (95%ДИ:14,2-34,3)	64 / $17,3 \pm 2,0$ (95%ДИ:16,2-37,9)
Вторая группа	75 / $18,2 \pm 1,9$ (95%ДИ:14,6-34)	67 / $18,1 \pm 2,0$ (95%ДИ:16,4-37,6)
Третья группа	136 / $33,0 \pm 2,3$ (95%ДИ:17,1-31,5)	118 / $31,9 \pm 2,4$ (95%ДИ:19-35)
Четвертая группа	131 / $31,8 \pm 2,3$ (95%ДИ:16,9-31,6)	121 / $32,7 \pm 2,5$ (95%ДИ:19,1-34,9)
Всего, n=782 чел.	412 / $52,7 \pm 1,8$ (95%ДИ:9,6-16)	370 / $47,3 \pm 1,8$ (95%ДИ:9,4-16,2)

Таким образом, во всех группах больных 412 человек ($52,7 \pm 1,8\%$) были мужчинами, 370 человек ($47,3 \pm 1,8\%$) - женщинами.

Был проведен анализ по типам диабета. Мы классифицировали диабет как диабет I типа (инсулинозависимый) и диабет II типа (инсулинонезависимый). Однако во время госпитализации, все больные были консультированы эндокринологом и получали инсулин по назначенной схеме. Данные приведены в Таблице 2.2.

Таблица 2.2- Распределение больных по типу диабета (абс./%, $P \pm m$)

Группы больных	I тип, n=130	II тип, n=652
Первая группа	23 / $17,7 \pm 3,3$ (95%ДИ:59,7-94,2)	111 / $17,0 \pm 1,5$ (95%ДИ:8,6-22)
Вторая группа	35 / $26,9 \pm 3,4$ (95%ДИ:62,9-90,8)	107 / $16,4 \pm 1,4$ (95%ДИ:8,5-22,2)
Третья группа	42 / $32,3 \pm 4,1$ (95%ДИ:64,2-89,7)	212 / $32,6 \pm 1,8$ (95%ДИ:10,5-20,2)
Четвертая группа	30 / $23,1 \pm 3,4$ (95%ДИ:61,9-92,1)	222 / $34,0 \pm 1,8$ (95%ДИ:10,6-20,1)
Всего, n=782 чел.	130 / $16,6 \pm 1,3$ (95%ДИ:7-18,5)	652 / $83,4 \pm 1,3$ (95%ДИ:10,2-15,4)

Анализируя данные Таблицы 2.2, можно прийти к следующим выводам: сахарный диабет I типа был у 130 пациентов, что составило $16,6 \pm 1,3\%$, сахарным диабетом II типа страдало 652 человека ($83,4 \pm 1,3\%$).

При определении тяжести диабета мы пользовались классификацией, приведенной в Таблице 2.3.

Таблица 2.3- Определение тяжести сахарного диабета

Показатели	Степень тяжести		
	Легкая	Средняя	Тяжелая
Уровень гликемии натощак, ммоль/л	< 8	8 - 14	> 14
Уровень глюкозурии, г/л	< 20 (< 2 %)	20 – 40 (2 – 4 %)	> 40 (4 %)
Компенсация достигается	диета	Табл., инсулин	Табл., инсулин
Осложнения (ангио – и нейропатии)	Функ. стадии	Функ. и начальн. стадии; период. кетозы	Термин. стадии; часто кетозы, кетоацидозы

По тяжести диабета больные распределились следующим образом (Таблица 2.4).

Таблица 2.4 - Распределение больных по тяжести диабета, (абс. /%, $P \pm m$)

Группы больных	Легкий сахарный диабет, n=68	Сахарный диабет средней тяжести, n=178	Тяжелый сахарный диабет, n=536
Первая группа	12 / 17,6 $\pm$ 4,6	28 / 15,7 $\pm$ 2,7	94 / 17,5 $\pm$ 1,6
Вторая группа	14 / 20,6 $\pm$ 4,9	33 / 18,5 $\pm$ 2,9	95 / 17,7 $\pm$ 1,6
Третья группа	23 / 33,8 $\pm$ 5,7	57 / 32,1 $\pm$ 3,5	174 / 32,5 $\pm$ 2,0
Четвертая группа	19 / 28,0 $\pm$ 5,4	60 / 33,7 $\pm$ 3,5	173 / 32,3 $\pm$ 2,0
Всего, n=782 чел.	68 / 8,7 $\pm$ 1,0	178 / 22,8 $\pm$ 1,5	536 / 68,5 $\pm$ 1,7

При анализе данных Таблицы 2.4, можно сделать вывод, что по группам пациентов преобладал диабет средней тяжести и тяжелый сахарный диабет, 178 пациентов (22,8 $\pm$ 1,5%) и 536 человек (68,5 $\pm$ 1,7%) соответственно.

Кроме того, был проведен анализ групп пациентов по степени компенсации сахарного диабета. При определении степени компенсации сахарного диабета, мы пользовались данными, приведенными в Таблице 2.5.

Таблица 2.5- Степени компенсации сахарного диабета

Показатели	Уровень компенсации		
	Компенсация	Субкомпенсация	Декомпенсация
HbA1c, %	6,5 и менее	7,1-7,5	более 7,5
Гликемия(ммоль/л): - натощак - через 2 ч после еды - перед сном	5,0-6,0 7,5-8,0 6,0-7,0	6,1-6,5 8,1-9,0 7,1-7,5	более 6,5 более 9,0 более 7,5

Анализируя данные Таблицы 2.6, можно сделать вывод, что сахарный диабет в стадии компенсации был выявлен у 76 пациентов (9,7±1,0%), стадия субкомпенсации – у 240 больных (30,7±1,7%), декомпенсированный сахарный диабет был у большинства больных – 466 человек (59,6±1,7%).

Таблица 2.6- Распределение больных по степени компенсации сахарного диабета (абс. /%, $P \pm m$)

Группы больных	Стадия компенсации, n=76	Стадия субкомпенсации, n=240	Стадия декомпенсации, n=466
Первая группа	14 / 18,3±4,4	36 / 15,0±2,3	84 / 18,0±1,8
Вторая группа	18 / 23,7±5,0	42 / 17,6±2,4	82 / 17,6±1,7
Третья группа	22 / 29,0±5,2	87 / 36,2±2,6	145 / 31,1±2,1

Продолжение Таблицы 2.6			
Четвертая группа	22 / 29,0±5,2	75 / 31,2±2,5	155 / 33,3±2,2
Всего, n=782 чел.	76 / 9,7±1,0	240 / 30,7±1,7	466 / 59,6±1,7

Категории МКБ: Другие уточненные формы сахарного диабета с другими уточненными осложнениями (E13.6), Другие уточненные формы сахарного диабета с множественными осложнениями (E13.7), Другие уточненные формы сахарного диабета с нарушениями периферического кровообращения (E13.5), Другие уточненные формы сахарного диабета с неврологическими осложнениями (E13.4), Инсулиннезависимый сахарный диабет с другими уточненными осложнениями (E11.6), Инсулиннезависимый сахарный диабет с множественными осложнениями (E11.7), Инсулиннезависимый сахарный диабет с нарушениями периферического кровообращения (E11.5), Инсулиннезависимый сахарный диабет с неврологическими осложнениями (E11.4), Инсулинозависимый сахарный диабет с другими уточненными осложнениями (E10.6), Инсулинозависимый сахарный диабет с множественными осложнениями (E10.7), Инсулинозависимый сахарный диабет с нарушениями периферического кровообращения (E10.5), Инсулинозависимый сахарный диабет с неврологическими осложнениями (E10.4), Сахарный диабет неуточненный с другими уточненными осложнениями (E14.6), Сахарный диабет неуточненный с множественными осложнениями (E14.7), Сахарный диабет неуточненный с нарушениями периферического кровообращения (E14.5), Сахарный диабет неуточненный с неврологическими осложнениями (E14.4).

Распределение больных по форме синдрома диабетической стопы приведена в Таблице 2.7.

Таблица 2.7- Распределение по форме синдрома диабетической стопы
(абс. /% $P \pm m$)

Группы больных	Ишемическая форма, n=156	Нейропатическая форма, n=290	Смешанная форма, n=336
Первая группа	21 / 13,5 $\pm$ 2,7 (95%ДИ:43,8-84,8)	53 / 18,3 $\pm$ 2,7 (95%ДИ:21,7-47,3)	60 / 17,9 $\pm$ 2,1 (95%ДИ:18,3-41,4)
Вторая группа	23 / 14,7 $\pm$ 2,8 (95%ДИ:44,3-83,5)	65 / 22,4 $\pm$ 2,4 (95%ДИ:22,9-46)	54 / 16,1 $\pm$ 2,0 (95%ДИ:17,6-42)
Третья группа	57 / 36,5 $\pm$ 2,8 (95%ДИ:51,6-76,5)	84 / 29,0 $\pm$ 2,7 (95%ДИ:24,4-44,7)	113 / 33,6 $\pm$ 2,6 (95%ДИ:21,3-38,2)
Четвертая группа	55 / 35,3 $\pm$ 3,8 (95%ДИ:51,5-76,9)	88 / 30,3 $\pm$ 2,7 (95%ДИ:24,5-44,4)	109 / 32,4 $\pm$ 2,5 (95%ДИ:21,1-38,3)
Всего, n=782 чел.	156 / 19,9 $\pm$ 1,4 (95%ДИ:7,5-18)	290 / 37,1 $\pm$ 1,7 (95%ДИ:8,9-16,6)	336 / 43,0 $\pm$ 1,8 (95%ДИ:9,2-16,4)

Таким образом, рассматривая Таблицу 2.7, можно сделать вывод, что ишемическая форма диабетической стопы была выявлена у 156 больных (19,9 $\pm$ 1,4%), нейропатическая – у 290 пациентов (37,1 $\pm$ 1,7%), смешанная – у 336 больных (43,0 $\pm$ 1,8%).

В своей работе мы пользовались классификацией диабетической стопы по Wagner, которая приведена ниже.

1.Классификация по глубине распространения язвенного дефекта (Wagner):

0 степень – стопа без открытых поражений (группа риска). Выраженные гиперкератозы могут маскировать аутолиз мягких тканей.

1-я степень – поверхностная язва (процесс захватывает эпидермис и дерму).

2-я степень – вовлечение подкожной жировой клетчатки, связок и сухожилий, мягких тканей без поражения костей.

3-я степень – глубокое поражение мягких тканей с вовлечением костей и развитием остеомиелитического процесса, гнойных артритов, абсцессов и флегмон.

4-я степень – развитие гангрены пальца, части стопы.

5-я степень – обширная гангрена.

Тяжесть состояния пациентов клинически оценивали по шкале SAPS. Данные по группам пациентов приведены в Таблице 2.8.

Таблица 2.8- Тяжесть состояния пациентов по шкале SAPS

Баллы	4	3	2	1	0	1	2	3	4
Возраст, годы					<45	46-55	56-65	66-75	>75
Пульс, в мин	>180	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	<40
Систолическое давление, мм рт.ст	>190		150-189		80-149		55-79		<55
Температура тела, °C	>41	39,0-40,9		38,5-38,9	36,0-38,4	34,0-35,9	32,0-33,9	30,0-31,9	<30
Частота дыхания, в мин	>50	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		<6
ИВЛ	-	-	-	-	-	-	-	Да	-
Мочевина, ммоль/л	>55,0	36,0-54,9	29,0-35,9	7,5-28,9	3,5-7,4	<3,5			
Гематокрит, %	>60,0		50,0-59,9	46,0-49,9	30,0-45,9		20,0-29,9		<20,0

Продолжение Таблицы 2.8									
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	>40,0		20,0- 39,9	15,0- 19,9	3,0- 14,9		1,0- 2,9		<1,0
Глюкоза, ммоль/л	>44,5	27,8- 44,4		14,0- 27,7	3,9- 13,9		2,8- 3,8	1,6- 2,7	<1,6
Калий, мЭКВ/л	>7,0	6,0- 6,9		5,5- 5,9	3,5- 5,4	3,0- 3,4	2,5- 2,9	2,0- 2,4	<2,0
Натрий, мЭКВ/л	>180	161- 179	156- 160	151- 155	130- 150		120- 129	110- 119	<118
НСО ₃ , мЭКВ/л		>40,0		30,0- 39,9	20,0- 29,9	10,0- 19,9		5,0- 9,9	<5,0
Шкала Глазго,					13- 15	10- 12	7-9	4-6	3

По тяжести состояния больные распределились следующим образом – данные приведены в Таблице 2.9.

Таблица 2.9- Распределение больных по тяжести состояния (абс. / %, $P \pm m$)

Группы больных	Относительно удовлетворительное состояние, n=148	Состояние средней тяжести, n=368	Тяжелое состояние, n=266
Первая группа	28 / 18,9 $\pm$ 3,2 (95%ДИ:50,2-84,8)	72 / 19,6 $\pm$ 2,1 (95%ДИ:16,9-37,5)	34 / 12,8 $\pm$ 2,0 (95%ДИ:21,4-53,9)
Вторая группа	34 / 23,0 $\pm$ 3,5 (95%ДИ:51,9-83,4)	84 / 22,8 $\pm$ 2,2 (95%ДИ:17,6-36,7)	24 / 9,0 $\pm$ 1,8 (95%ДИ:18,1-56,9)
Третья группа	42 / 28,4 $\pm$ 3,7 (95%ДИ:53,5-81,8)	109 / 29,6 $\pm$ 2,4 (95%ДИ:18,8-35,5)	103 / 38,7 $\pm$ 2,0 (95%ДИ:28,2-46,9)
Четвертая группа	44 / 29,7 $\pm$ 3,7 (95%ДИ:53,7-81,3)	103 / 30,3 $\pm$ 2,7 (95%ДИ:20,6-38,2)	105 / 39,5 $\pm$ 3,0 (95%ДИ:28,4-46,9)
Всего, n=782 чел.	148 / 18,9 $\pm$ 1,4 (95%ДИ:7,4-18,1)	368 / 47,1 $\pm$ 1,8 (95%ДИ:9,4-16,2)	266 / 29,0 $\pm$ 1,6 (95%ДИ:7,2-14,6)

Анализируя данные Таблицы 2.9, можно сделать вывод, что большая часть пациентов находилась в состоянии средней тяжести – 368 человек $47,1 \pm 1,8\%$), в тяжелом состоянии поступили 266 пациентов ($29,0 \pm 1,6\%$), в относительно удовлетворительном состоянии было 148 больных ($18,9 \pm 1,4\%$).

У 685 ($87,6 \pm 1,2\%$) пациентов была выявлена сопутствующая патология при поступлении. Данные приведены в Таблице 2.10.

Таблица 2.10 - Структура сопутствующей патологии по группам сравнения

Сопутствующая патология	Первая группа, n=134	Вторая группа, n=142	Третья группа, n=254	Четвертая группа, n=252
Хронические обструктивные заболевания легких	15 / $11,2 \pm 2,9$	17 / $12,0 \pm 2,7$	32 / $12,6 \pm 2,1$	33 / $13,1 \pm 2,1$
Ишемическая болезнь сердца	17 / $12,7 \pm 2,9$	19 / $13,4 \pm 2,9$	36 / $14,2 \pm 2,2$	33 / $13,1 \pm 2,1$
Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	5 / $3,7 \pm 1,6$	6 / $4,2 \pm 1,7$	12 / $4,7 \pm 1,3$	10 / $4,0 \pm 1,2$
Гипертоническая болезнь	19 / $14,2 \pm 3,0$	21 / $14,8 \pm 2,0$	35 / $13,8 \pm 2,2$	34 / $13,5 \pm 2,1$
Желчекаменная болезнь	10 / $7,4 \pm 2,3$	13 / $9,1 \pm 2,4$	24 / $9,4 \pm 1,8$	22 / $8,7 \pm 1,8$
Васкулиты	14 / $10,4 \pm 2,6$	13 / $9,1 \pm 2,4$	24 / $9,4 \pm 1,8$	22 / $8,7 \pm 1,8$
Мочекаменная болезнь	13 / $9,7 \pm 2,6$	12 / $8,4 \pm 2,3$	22 / $8,7 \pm 1,8$	23 / $9,1 \pm 1,8$
Ожирение	10 / $7,4 \pm 2,3$	12 / $8,4 \pm 2,3$	24 / $9,4 \pm 1,8$	22 / $8,7 \pm 1,8$
Прочие	10 / $7,4 \pm 2,3$	8 / $5,6 \pm 1,9$	12 / $4,7 \pm 1,3$	31 / $12,3 \pm 2,1$
Всего	113 / $84,3 \pm 3,1$	121 / $85,2 \pm 3,0$	221 / $87,0 \pm 2,1$	230 / $91,3 \pm 1,8$

Таким образом, по основным нозологическим формам сопутствующей патологии группы больных сопоставимы (критерий Стьюдента).

Среди выполненных операций выделяли следующие:

1. Первичная (вторичная) хирургическая обработка раны;

2. Некрэктомия + ксенопластика;
3. Некрэктомия + комбинированная пластика;
4. Некрэктомия + пластика местными тканями;
5. Некрэктомия + аутодермотрансплантация;
6. Наложение вторичных швов;
7. Аутодермотрансплантация (в т.ч. многоэтапные);
8. Пластика лоскутом с осевым кровоснабжением;
9. Ампутации конечностей и сегментов;
10. Выполнение остеосинтеза + различные виды пластик;
11. Ультразвуковая кавитация с различными вариантами пластики;
12. VAC-терапия с дальнейшими вариантами пластики.

Большинство пациентов были оперированы как в экстренном порядке, так и в раннем плановом – 695 (88,9±1,1%) пациентов, 87 (11,1±1,1%) больных были пролечены консервативно, с использованием раневых покрытий, мазей на гидрофильной основе. Данные по группам больных приведены в Таблице 2.11.

Таблица 2.11- Количество оперированных больных (абс. / % , $P \pm m$)

Операции	Первая группа, n=134	Вторая группа, n=142	Третья группа, n=254	Четвертая группа, n=252
Оперировано	134 / 100	142 / 100	198 / 78,0±2,1	221 / 87,7±2,1
Пролечено консервативно	0	0	56 / 22,0±2,6	31 / 12,3±2,1

Согласно данным Таблицы 2.11 в исследуемых группах больных наблюдается существенная разница. В первой группе пациентов оперативное лечение выполнялось в два этапа, оперировано было 100% больных. Первым этапом выполнялась первичная/вторичная хирургическая обработка раны с наложением аппарата VAC-дренирования. На втором этапе VAC-аппарат снимался, выполнялась одна из видов пластик для закрытия раны. Во второй группе также было оперировано 100% пациентов, первичная/вторичная обработка раны дополнялась ультразвуковой кавитацией, после чего предпринималась

попытка закрытия раны. В третьей и четвертой группах большая часть пациентов, $78,0 \pm 2,1\%$ и $87,7 \pm 2,1\%$ соответственно, были оперированы. Консервативно было пролечено $22,0 \pm 2,6\%$ больных в третьей группе и $12,3 \pm 2,1\%$ в четвертой группе больных.

Таким образом, анализируя полученные данные, можно прийти к выводу, что по гендерному составу, возрасту, нозологическим единицам, наличию сопутствующей патологии, выполненным операциям группы больных репрезентативны.

2.3. Методы исследования

Патоморфологический метод

Подготовка материала для световой микроскопии включала фиксацию полученных после первичной операции биоптатов краев и дна ран, грануляций и участков эпителизации в 10% растворе формалина на 0,1% фосфатном буфере (рН=7,4), обезвоживание в спиртах возрастающей концентрации, просветление в ксилоле и заливку в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 ± 1 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, изучали в светооптическом микроскопе Olympus BX-40, микрофотографии готовили с помощью цифровой фотокамеры Olympus U-TV1X с программным обеспечением Olympus DP-Soft. Исследования срезов тканевых биоптатов осуществляли с учетом рекомендаций Г.Г. Автандилова (1990) по сравнительной микроспектрофотометрии. Морфометрические показатели тканей краев ран и грануляций измеряли с помощью точечных тестовых систем на микрофотографиях 10 полей зрения оптического микроскопа при конечном увеличении $\times 200$, отобранных случайным методом на 5 срезах каждого клинического случая. Полученные значения морфометрических показателей лейкоцитарных инфильтратов (ЛИ), сосудов гемомикроциркуляторного русла (ГМЦР), основного аморфного вещества (ОАВ), пучков коллагеновых волокон (ПКВ) и соединительнотканых) клеток (СК) обрабатывали статистически с помощью стандартного пакета прикладных лицензионных программ (Excel, MedStat).

Бактериологический метод

Данный метод был применен один из наиболее важных и достоверных критериев оценки качества лечения – метод количественного определения микроорганизмов в 1 г ткани. С его помощью можно объективно оценивать результат лечения, контролировать сроки закрытия раны, а также проводить сравнительную оценку эффективности методов, применяемых для местного лечения ран.

При обсемененности раны выше «критического числа» 10^5 микробных тел в 1 г тканей в жизнеспособных тканях развивается нагноение. Данный уровень микробной обсемененности является одним из основных факторов риска генерализации инфекции и сепсиса.

Изучение динамики микробной обсемененности гнойных ран осуществляли следующим образом. После хирургической обработки раны (первичной или вторичной), в качестве материала для определения исходного уровня бактериальной обсемененности иссекали кусочки ткани из дна и стенок раны. Данную процедуру повторяли на 5-е и 7-е сутки в тех случаях, когда рана оказывалась закрыта неполностью. Иссеченные участки массой 1 г помещали в ступку и растирали с физиологическим раствором из расчета 1:10.

Для определения количества каждого вида бактерий, находящихся в исследуемом содержимом, использовали метод «секторных посевов».

Он основан на определении числа микробных клеток в 1 мл материала (КОЕ/мл). Петлей диаметром 2 мм проводили посев в определенные сектора чашки Петри на каждой среде. В секторе А посевной материал бактериологической петлей производили посев на питательную среду (30-40 штрихов). После этого петлю прожигали и производили 4 штриховых посева из сектора А в I, аналогичным образом из I во II и из II в III, прожигая петлю после пересева из каждого сектора. Чашки инкубировали при 37⁰С 18-24 ч, после чего подсчитывали число колоний, выросших в разных секторах.

На каждого больного расходовали 3 чашки Петри со средами: среда 5% кровяной агар, среда Эндо, среда ЖСА (желточно-солевой агар).

Иммуноферментный метод

Забор крови у пациентов с СДС и в контрольной группе осуществляли с использованием вакуумных систем типа «BD Vacutainer», содержащих в качестве консерванта калиевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (K_2EDTA). Кровь брали утром натощак, из кубитальной вены в количестве 10 мл. Для получения плазмы пробирки с кровью центрифугировали в течение 20 мин. с ускорением 1500 g при температуре 4°C в центрифуге ОПН-8 (Россия). Полученную плазму помещали в промаркированные пластиковые пробирки типа «Эппендорф» для дальнейшего хранения при температуре - 70°C до проведения анализов.

Содержание в крови VEGF, $INF\gamma$, $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-6$, $IL-10$, PDGF-BB и TGF- 1β определяли с использованием иммуноферментных тест-систем: VEGF-ИФА-БЕСТ, гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ, Интерлейкин 1 бета-ИФА-БЕСТ, альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ, Интерлейкин 6-ИФА-БЕСТ, Интерлейкин 10-ИФА-БЕСТ (АО «Вектор-Бест» Россия), ELISA Kit «Human PDGF-BB Quantikine ELISA Kit» (R&D Systems; США), «Bender MedSystems», (Австрия), Аполипопротеина A1 (Human Apo A1 ELISA Kit, США), аполипопротеина В (Human Apo В ELISA Kit, США) и липопротеина (а) (Human Lp(a) ELISA Kit, США). В качестве контрольной группы были исследованы 30 человек, которые могли быть отнесены к категории здоровых лиц.

С целью количественного определения указанных веществ в указанных тест-системах использовали принцип двухсайтового иммуноферментного анализа (сэндвич-метод). В лунки планшета с иммобилизованным специфическим антигеном вносили исследуемый образец и конъюгат, содержащий анти-специфические антитела, меченые пероксидазой хрена. Соответствующее вещество из образца в этих условиях связывали с антигеном на поверхности лунки и конъюгатом. Несвязанный материал удаляли отмывкой. После отмывки активность определяемого вещества, связанного на поверхности лунки, проявлялась добавлением субстрата (ТМБ). Интенсивность цветной реакции

прямо пропорциональна количеству аналита в образце. Концентрацию определяли по калибровочному графику зависимости оптической плотности от содержания веществ в калибровочных пробах. Интенсивность окраски продуктов иммуноферментных реакций количественно измеряли на планшетном ридере «Multiscan EX» Thermo Electron Corp. (Финляндия) при длине волны 450 нм.

Метод изучения лабораторных показателей

Уровни таких параметров, как гликозилированный гемоглобин, общий холестерин, холестерин липопротеидов низкой и высокой плотности, триглицериды (анализаторы биохимические АБхФк – 02 – «НПП-ТМ» (Би Ан), Россия и «Olympus AU-640», Германия; наборы производства Россия и Молдова) оценивали биохимическим методом.

Клинический метод. Изучение структуры язвенно-некротических поражений; изучение длительность стационарного лечения; послеоперационные осложнения.

Инструментальный метод

VAC-терапия осуществлялась с помощью аппарата NP50H («HEACO LTD», Корея) в прерывистом режиме с вакуумным разрежением 125 мм рт. ст. Первый сеанс VAC-терапии ран проводили на 2-е сутки после санации гнойного очага. Длительность сеанса 5-7 суток, при необходимости – смена контейнера.

Ультразвуковую обработку ран у пациентов основной группы проводили ультразвуковым аппаратом «Sonoca-180» фирмы Söring (Германия).

Обработку ран на стопе выполняли ультразвуковым диссектором «Sonoca-180» с рабочей частотой ультразвука $f=25$ кГц при амплитуде 140/150 мкм на зонде с площадью 15 мм^2 величиной ускорения $10\,000g$ и интенсивностью от 200 до 1000 мВ/мм^2 . В качестве рабочего раствора использовали 0,02% водный раствор хлоргексидина. УЗ-кавитацию начинали с малой мощности (соответствует 1,5–2,5 ед. по шкале прибора) с постепенным ее повышением, принимая во внимание болевые ощущения пациента. Средняя скорость обработки составляла $1 \text{ см}^2/\text{мин}$. Перед обработкой раны заполняли рабочим раствором, после чего в полость вводили наконечник волновода. Мощность ультразвука

подбирали индивидуально, в зависимости от уровня загрязненности раны, болевого порога чувствительности пациента, объема озвучиваемой полости. Длительность сеанса не превышала 3–5 мин. Курс – 2-3 сеанса.

После механической обработки краев раны, промывания и санации раневой полости излучающие головки устанавливали по краям раны и проводили 7-8 сеансов воздействия низкоинтенсивным лазерным излучением. Продолжительность сеанса облучения от 8 до 15 мин – в зависимости от размеров раны.

При длине волны излучения 940 нм мы применяли импульсное излучение: частота 1500 Гц, мощность от 6 до 8 Вт. Суммарная доза энергии за сеанс соответствовала дозе в 0,05-1,0 Дж/см².

Озонотерапию проводили с помощью аппарата «ОЗОН УМ-80», создающего озон-кислородную газовую смесь с концентрацией озона от 0,5 до 50 мг/л. Общую озонотерапию осуществляли путем барботирования физиологического раствора хлорида. Озонированный физиологический раствор хлорида натрия 200 мл вводили внутривенно при концентрации озона 4,8 мг/л, количество процедур - 8.

Математический анализ

Для математической обработки данных применяли стандартные пакеты общепринятого программного обеспечения Microsoft Office Excel (2010) в среде операционной системы Windows 7, стандартные пакеты для статистического анализа данных «STATISTICA 10.0», (StatSoft, Inc., США), IBM SPSS Statistics 21» (IBM Corporation and other(s), 1989, 2012, США). Проектирование, построение и анализ полученных математических моделей осуществляли посредством применения пакетов для статистического анализа данных «STATISTICA 10.0» и «MedCalc 11.6».

Рациональные методы обработки данных включали в себя все алгоритмы однофакторного и статистического анализа, параметрических и непараметрических методов сравнения статистических совокупностей. В процессе анализа использовали методы построения математических моделей

многофакторной линейной регрессии с алгоритмами «включения-исключения» для пошаговой многомерной регрессии.

При статистической обработке данных были использованы базовые методы математической статистики: описательная статистика (величины в виде выборочного среднего значения, стандартного отклонения средней величины (M (SD), 95% доверительного интервала), критерии парных и множественных сравнений. На первом этапе анализа данных обязательно проверяли принадлежность распределения к нормальному закону распределения случайных величин с помощью применения критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's) (при выборке $n < 30$) или Хи-квадрат (Chi-square test) (при выборке $n > 30$). Значимость статистических различий средних величин выборок оценивали с помощью параметрических (F-критерий Фишера) и непараметрических критериев (W-критерий Wilcoxon, Chi-square test, критерий Mann-Whitney при асимметрии распределения).

Для анализа таблиц сопряженности использовали критерий Хи-квадрат Пирсона или угловое преобразование Фишера.

При всех процедурах статистического анализа учитывался уровень статистической значимости (p), при этом критическим уровнем значимости считали значение 0,05.

Для анализа связи между факторами и расчетными величинами были применены методы корреляционного (методы расчета коэффициентов корреляции Спирмена).

Проводили проверку распределений на нормальность, затем по результатам расчета критерия вычисляли средние значения (M) и 95% доверительный интервал (95%CI) или медиану (Me) и межквартильный интервал ($Q1$ и $Q3$). Сравнение показателей независимых двух групп проводили с помощью W-критерия Манна-Уитни, для сравнения связанных выборок применялся критерий Вилкоксона, для проведения множественных групповых сравнений использовали ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса для парных сравнений.

Для оценки степени и характера взаимосвязи между клинико-лабораторными показателями рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r). Категориальные данные представляли в виде процентов (%).

В работе применяли дедуктивную методику и определяли следующие показатели: чувствительность, специфичность и информативность метода по формулам 1,2,3, используя общие понятия диагностического стандарта: ИО – истинноотрицательный ответ – отрицательный результат диагностического теста в отсутствии у больного искомого состояния или заболевания; ИП – истинноположительный ответ – положительный результат диагностического теста при наличии у больного искомого состояния или заболевания; ЛО – ложноотрицательный ответ – отрицательный результат диагностического теста при наличии у больного искомого состояния или заболевания; ЛП – ложноположительный ответ – положительный результат диагностического теста в отсутствии у больного искомого состояния или заболевания (Таблица 2.12).

Таблица 2.12- Характеристика полученных результатов исследования больных с СДС в зависимости от исхода лечения

Диагностический тест	Искомое заболевание	
	есть+	нет -
Положительный +	ИП	ЛП
Отрицательный -	ЛО	ИО

Примечание: ИП – истинноположительный результат, ИО – истинноотрицательный результат, ЛП – ложноположительный результат, ЛО – ложноотрицательный результат

Формулы 1-3 для расчета специфичности (Sp), чувствительности (Se) и информативности (Inf) изучаемого диагностического метода, где ИО – истинно отрицательный ответ, ЛП – ложноположительный ответ, ЛО – ложноположительный ответ, ИП – истинноположительный ответ, n – общее количество больных, используемое в изучении метода.

$$Sp = \frac{ИО}{ИО + ЛП} \times 100\%$$

$$Se = \frac{ИП}{ЛО + ИП} \times 100\%$$

$$Inf = \frac{ИП + ИО}{n} \times 100\%$$

Чувствительность метода (Se) – вероятность положительного результата диагностического теста при наличии болезни.

Специфичность метода (Sp) – вероятность отрицательного результата диагностического теста в отсутствии болезни.

Информативность (Inf) – отношение суммы всех истинно-положительных и истинноотрицательных результатов к общему числу исследований.

ГЛАВА 3.МОРФОЛОГИЯ РАН СТОПЫ У ПАЦИЕНТОВ С СДС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ ПРОГРАММ ЛЕЧЕНИЯ

Всего патоморфологическому исследованию подверглись 162 пациента (20,7(1,5)%) от общего числа больных, которые были разделены на 4 группы в зависимости от типа лечебных программ. У данной выборки пациентов одномоментное закрытие раневого дефекта не представлялось возможным из-за геометрии и глубины раны. При гистологическом контроле течения раневого процесса в первой группе исследования проводили у 42 (31,3(2,1)%) пациентов, во второй группе – у 46 (32,4(2,4)%), в третьей – у 37 (14,5(5,0)%) и четвертой – у 37 (14,6(5,0)%) больных с СДС. Исследуемые группы были репрезентативны.

На момент поступления в стационар (до начала лечения) у всех обследованных пациентов с диабетической стопой морфологическому исследованию подвергали участки краев и центра ран, полученных после первичной хирургической обработки. Ткани в полученных биоптатах краев раны у всех обследованных пациентов при микроскопическом исследовании демонстрировали сходную картину и в основном были представлены лейкоцитарно-некротическим детритом. Лейкоцитарно-некротический детрит идентифицировали по скоплению нейтрофилов, наличию некротически измененных пучков коллагеновых волокон (ПКВ), покрытых фибрином, выраженную диффузную лейкоцитарную инфильтрацию (Рисунок 3.1).

Частота выявления лейкоцитарно-некротического детрита была достоверно выше как в области краев раны, так и в области дна раны по сравнению с частотой идентификации грануляционной ткани (Рисунок 3.2).

Характерной была краевая локализация лейкоцитарных инфильтратов (ЛИ), тогда как некротически измененные пучки коллагеновых волокон (ПКВ), покрытые фибрином, имели центральную локализацию в ране. В среднем удельная площадь ЛИ в исследуемых препаратах составляла 48–59%, причем с

преобладанием клеток нейтрофильного ряда. В периваскулярной ткани встречались группы лимфоцитов, единичные макрофаги и плазмоциты. Сосуды гемомикроциркуляторного русла (ГМЦР) практически отсутствовали в поверхностных слоях раны, также отсутствовали гидропические изменения основного аморфного вещества (ОАВ).

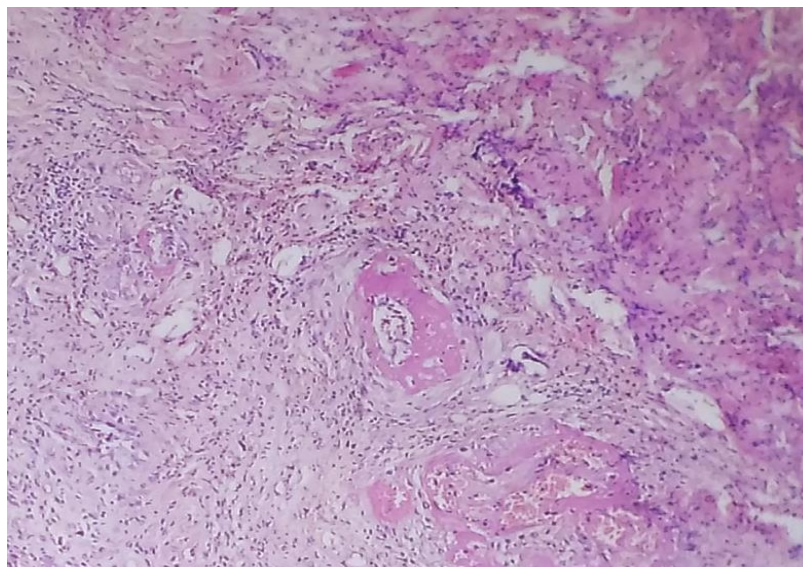


Рисунок 3.1- Участок лейкоцитарно-некротического детрита (вверху справа) в крае раны у пациента с СДС до лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

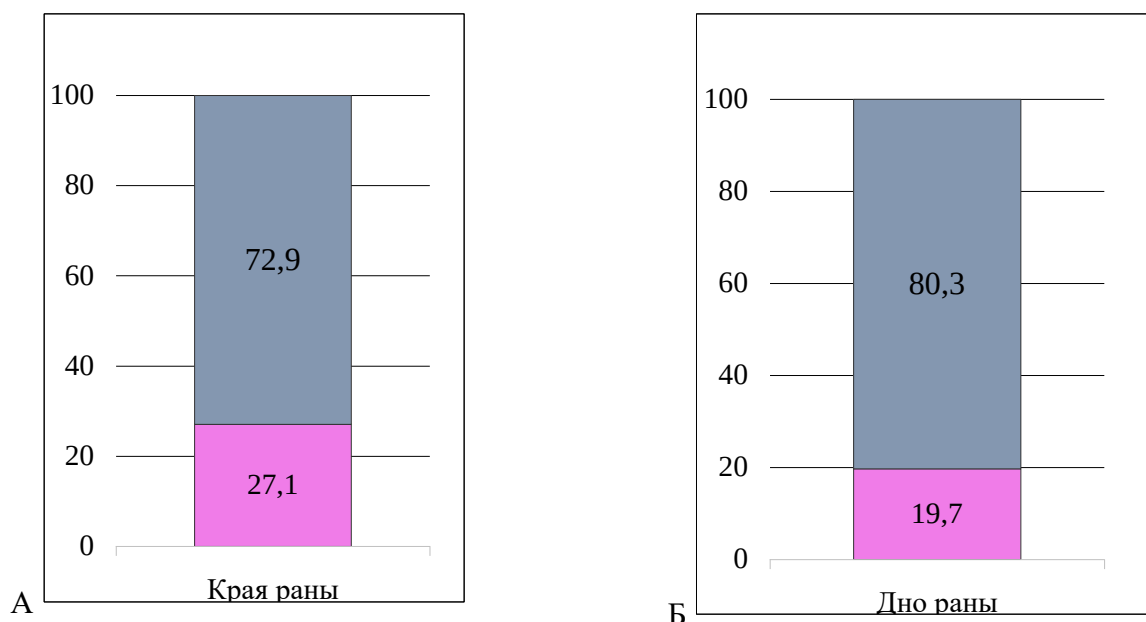


Рисунок 3.2- Частота выявления (%) грануляционной ткани (ряд 1) и лейкоцитарно-некротического детрита (ряд 2) в области краев раны (а) и дна раны (б) у обследованных пациентов до лечения

При изучении морфологии пограничных с лейкоцитарно-некротическим детритом тканей установили наличие дефектов эпидермиса с обнажением сосочкового и сетчатого слоев дермы, «фибриновые манжеты» вокруг сосудов гемомикроциркуляторного русла (Рисунок 3.3), различную степень лейкоцитарной инфильтрации, гемосидерин и экстравазацию эритроцитов.

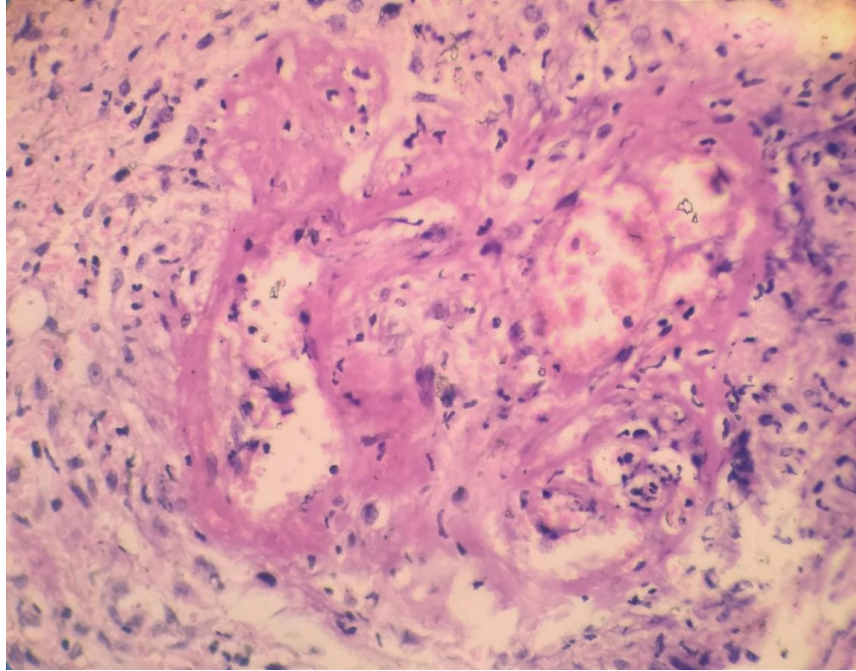


Рисунок 3.3- «Фибриновые манжеты» вокруг сосудов гемомикроциркуляторного русла в сосочковом слое дермы дна раны пациента до лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

Клетки эпидермиса в тканевых биоптатах краев ран были единичными в 32% препаратов, лишь в 2,5% препаратов выявили фрагменты многослойного ороговевающего эпителия, тогда как в области дна ран эпителиальные клетки не встречались. Ввиду интенсивной нейтрофильной инфильтрации дермы дифференцировать соединительнотканые клетки (СК) не представлялось возможным (Рисунок 3.4). Обращала на себя внимание слабо выраженная гидропическая трансформация основного аморфного вещества.

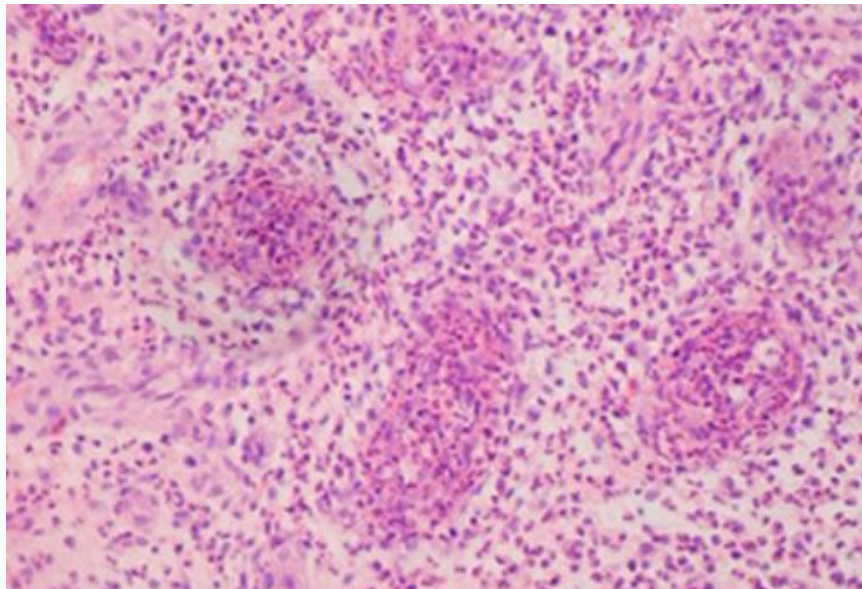


Рисунок 3.4- Интенсивная нейтрофильная инфильтрация грануляционной ткани края раны у пациента с СДС до лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Показатели удельной площади тканевых элементов в иссеченных фрагментах пограничных участков краев ран у пациентов обследованных групп не имели достоверных различий и свидетельствовали о наличии хронического воспалительного процесса – ЛИ:ПКВ:ОАВ:ГМЦР составило 53:30:11:6 в области краев раны и недостоверно отличалось от таковых в области дна (Рисунок 3.5). Учитывая длительный характер диабетических язв у наших больных, грануляционная ткань выявлялась в 2,2 раза реже (в среднем в 27% препаратов биоптатов ран), чем лейкоцитарно-некротический детрит, а в 73% препаратов грануляционная ткань полностью отсутствовала.

У больных 1-й группы к 8 суткам VAC-терапии по краям ран грануляционная ткань достоверно в 1,75 раза чаще встречалась (в среднем 47,5% против 27,1% случаев до лечения; $p=0,009$), а в центре ран грануляционная ткань достоверно преобладала ($p=0,001$) (Рисунок 3.6). Экспансия грануляционной ткани в области дна ран происходила на фоне исчезновения некротического детрита практически во всех препаратах.

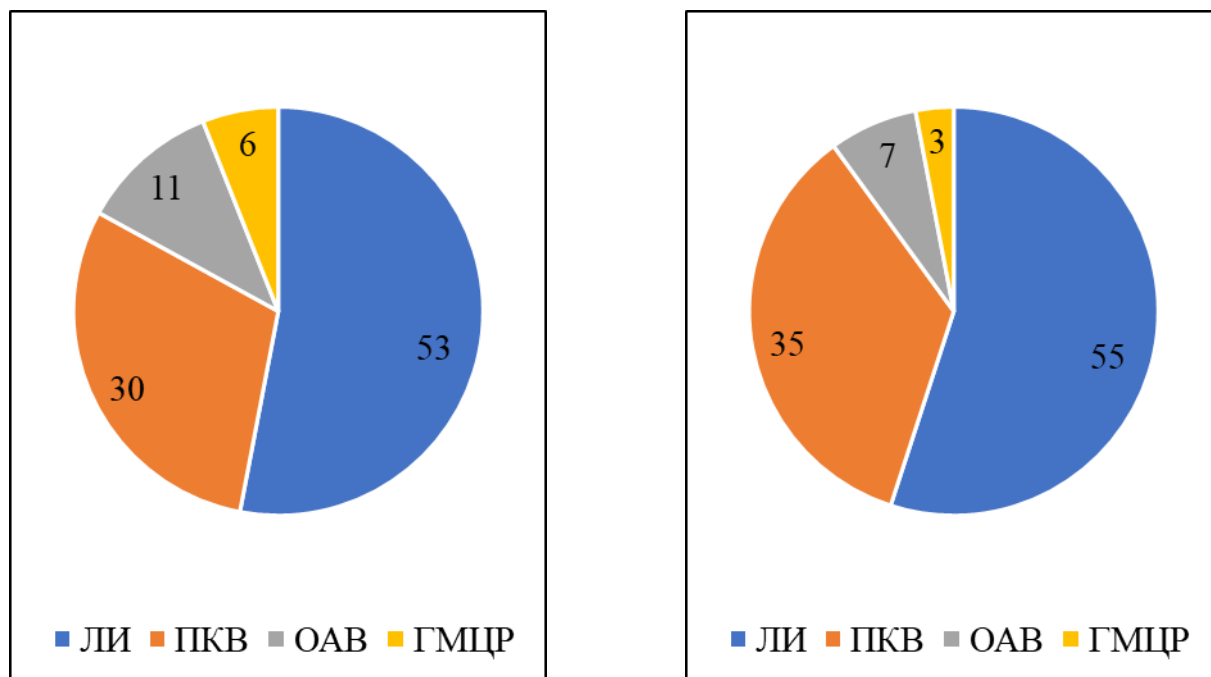


Рисунок 3.5 - Удельная площадь тканевых элементов (%) в области краев раны (а) и дна раны (б) у обследованных пациентов до начала лечения

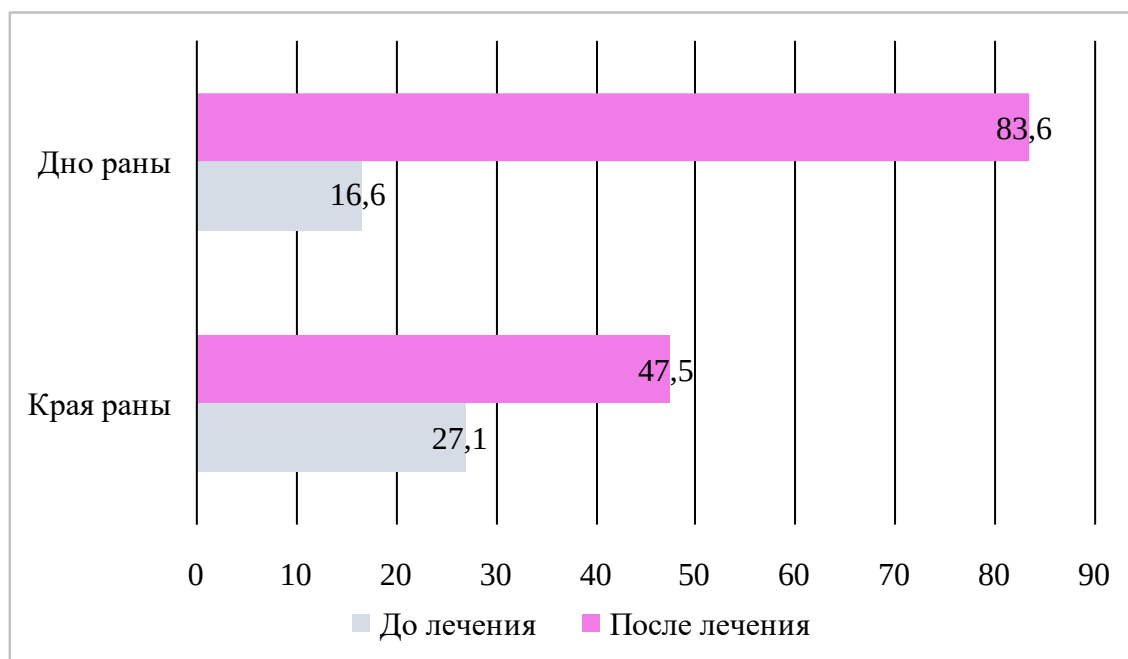


Рисунок 3.6- Удельная площадь грануляционной ткани (%) в области краев и дна раны у пациентов 1-й группы в динамике лечения

Лейкоцитарная инфильтрация краев ран у пациентов 1-й группы была достоверно в 1,27 раза выше, чем при традиционном лечении (4-я группа) (в среднем 85,4% против 62,3% случаев; $p=0,010$).

Параллельно с формированием грануляций в краях ран сохранялось большее количество нейтрофилов ($P=80,3\%$; $[73,5:88,4]$, чем до лечения ($P=65,7\%$; $[56,4:70,8]$), ($p=0,001$; критерий Манна-Уитни) (Рисунок 3.7).

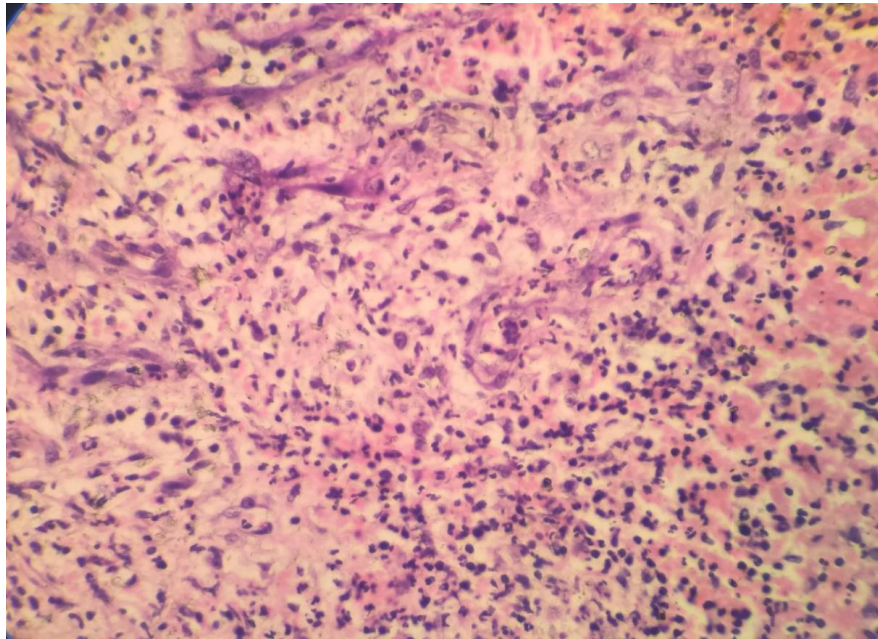


Рисунок 3.7- Скопление лейкоцитов (снизу справа) в грануляционной ткани края раны пациента 1-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Имели место признаки эпителизации краев раны, что подтверждено достоверным приростом количества эпителиальных клеток в 69% препаратов. В центральных отделах дна ран нейтрофилы регистрировали в 2,3 раза реже у больных после VAC-терапии ($P=19,1\%$; $[12,8:27,7]$), чем у пациентов до лечения ($P=43,8\%$, $[37,2:52,9]$), ($p=0,033$; U-критерий Манна-Уитни) (Таблица 3.1).

Таблица 3.1- Удельный вес нейтрофильных гранулоцитов (%) в биоптатах ран пациентов с СДС, для лечения которых применялась система VAC-дренирования, P [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	p
Край	65,7; [56,4:70,8]	80,3; [73,5:88,4]	0,001
Дно	19,1; [12,8:27,7]	43,8; [37,2:52,9]	0,033

В дерме имело место постепенное увеличение среднего числа макрофагов в направлении от краев к центру дна язвенного дефекта (соответственно с 48% до 65%, $p < 0,05$), что сопровождалось разнонаправленным изменением численности лимфоцитов – от единичных лимфоцитов в области дна к 34% в периферических участках краев ран (Рисунки 3.8,3.9).

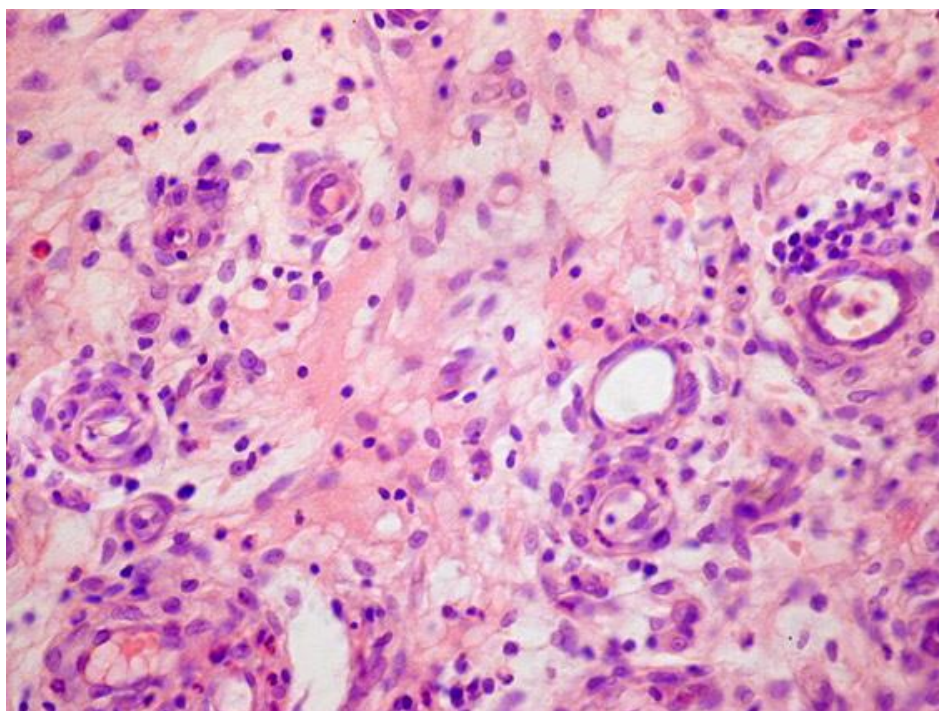


Рисунок 3.8. Единичные периваскулярно расположенные лимфоциты в грануляциях края раны пациента 1-й группы. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

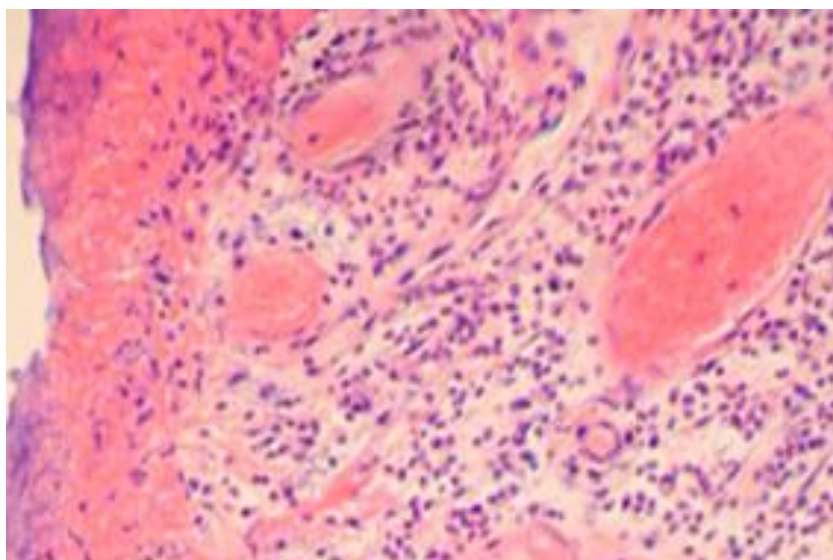


Рисунок 3.9-Грануляционная ткань дна раны пациента 1-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

На дне ран пациентов 2-й группы в 2,38 раза чаще регистрировали фибробласты ($P=15,5\%$; [7,3:21,8]), чем у таковых до лечения ($P=6,5\%$; [2,8:12,6]), ($p=0,017$; U-критерий Манна-Уитни) (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 -Удельный вес фибробластов (%) в биоптатах ран пациентов с СДС, для лечения которых применялась система VAC-дренирования, P [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	p
Край	5,4; [3,3:6,8]	20,8; [14,9:28,1]	0,003
Дно	6,5; [2,8:12,6]	15,5; [7,3:21,8]	0,017

Отношение удельных площадей тканевых элементов ЛИ:ПКВ:ОАВ:ГМЦР в области краев ран имело вид 47:14:13:26, а в области дна ран - 13:10:14:63, что подтверждает снижение воспалительного процесса и доминирование грануляций с вновь образованными сосудами ГМЦР (Рисунок 3.10).

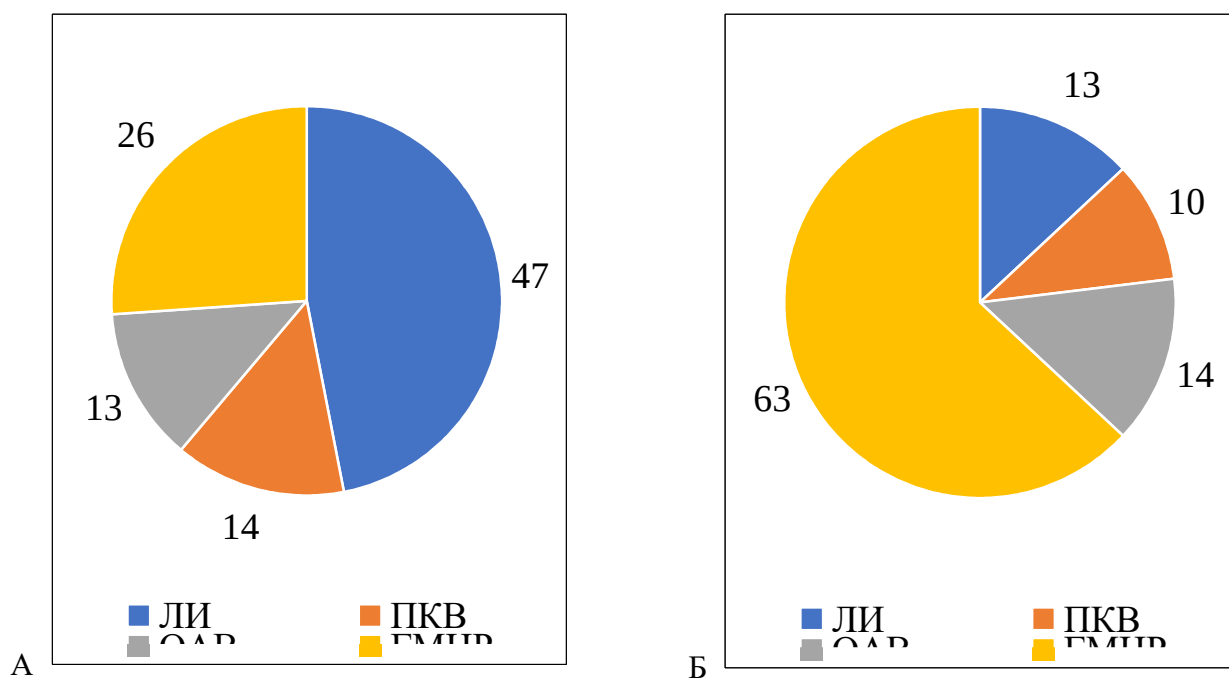


Рисунок 3.10- Удельная площадь тканевых элементов (%) в области краев раны (а) и дна раны (б) у пациентов 1-й группы после лечения путем VAC - дренирования

Во 2-й группе пациентов, у которых применялась ультразвуковая кавитация во время хирургической обработки ран, сопровождалось сходными с 1-й группой структурными изменениями в тканях ран, однако сохранялись признаки гидропической трансформации дермы краев ран (Рисунок 3.11) и встречались отдельные участки некротического детрита.

Удельная площадь грануляционной ткани преобладала в области дна раны по сравнению с таковой в области краев (Рисунок 3.12).

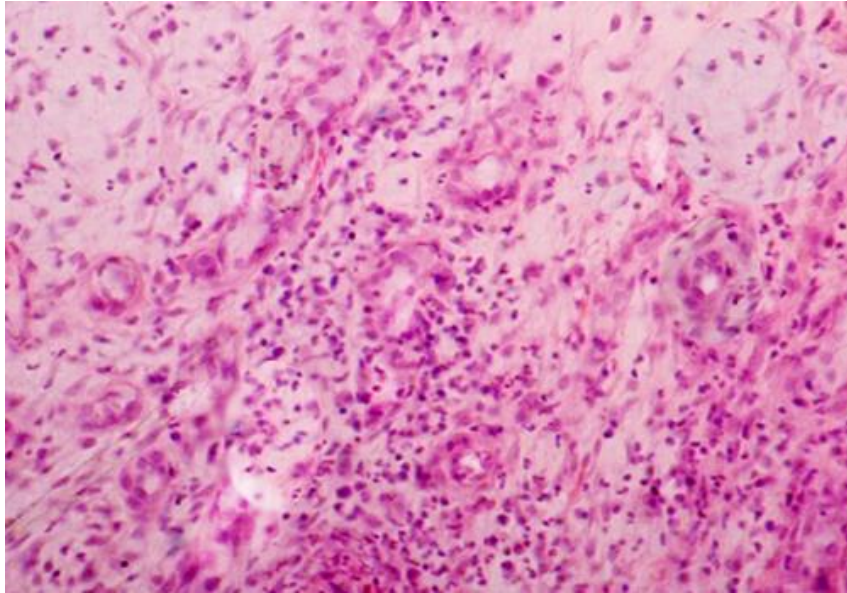


Рисунок 3.11- Лейкоцитарная инфильтрация грануляционной ткани края раны пациента 2-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

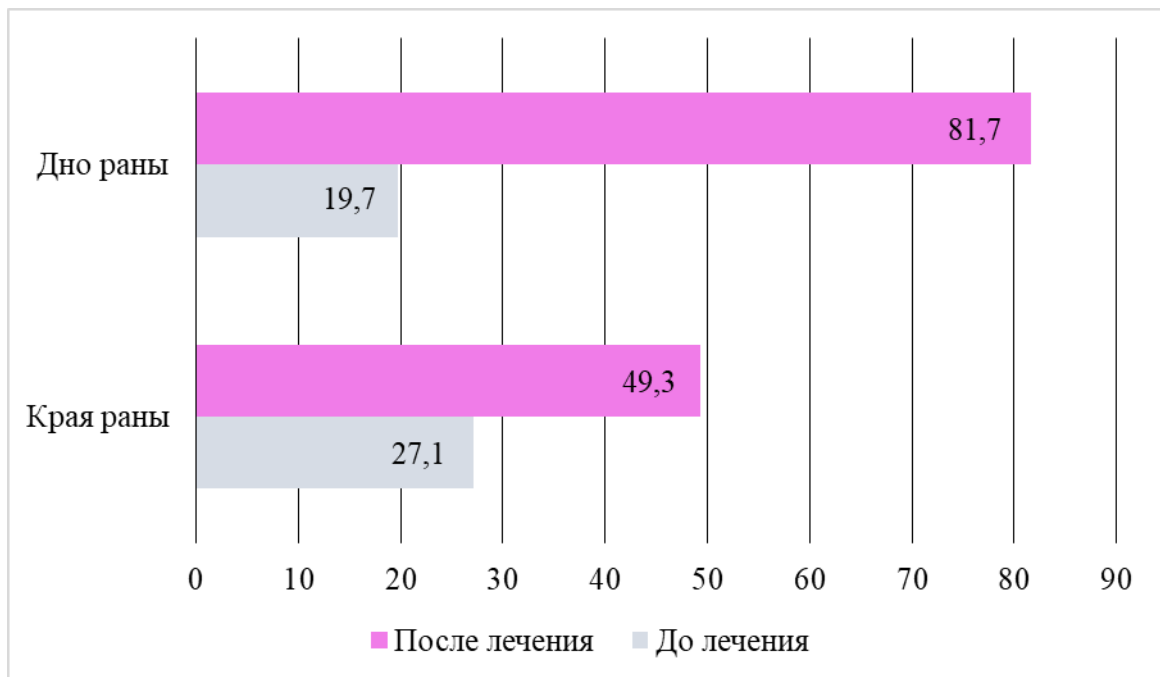


Рисунок 3.12- Удельная площадь грануляционной ткани (%) в области краев и дна раны у пациентов 2-й группы в динамике лечения

Характерной была сходная картина нейтрофильной инфильтрации в краях и дне ран, где доминирующей популяцией были нейтрофилы (численность нейтрофилов в среднем в 1,25-1,41 раза превышала таковую до лечения ($p < 0,05$) (Таблица 3.3).

Таблица 3.3 - Удельный вес нейтрофильных гранулоцитов (%) в биоптатах ран пациентов с СДС, для лечения которых применялась ультразвуковая кавитация,

Р [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	р
Край	65,7; [56,4;70,8]	82,1; [70,4;93,2]	0,013
Дно	19,1; [12,8;27,7]	27,0; [20,6;35,4]	0,047

В области дна раны сосуды ГМЦР были заполнены сладжами эритроцитов, а в ОАВ имели признаки тканевого отека (Рисунок 3.13).

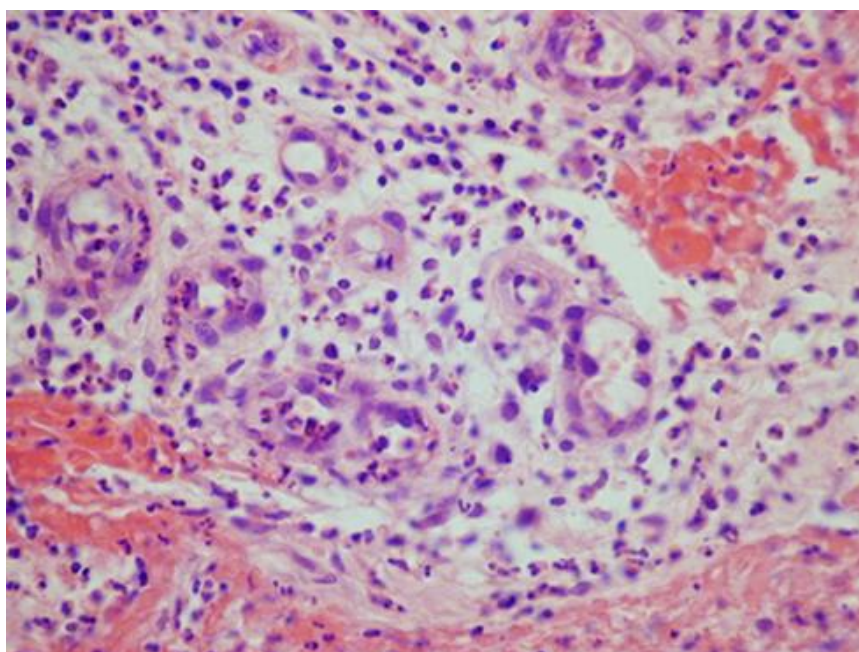


Рисунок 3.13- Лейкоцитарная инфильтрация и сладжи эритроцитов в грануляционной ткани края раны пациента 2-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

Увеличение количества эпителиальных клеток отмечалось в 52% препаратов. В области краев ран увеличивалась численность фибробластов в 1,81 раза ($P = 15,7\%$; [11,7:20,3]), чем у больных до лечения ($P = 8,7\%$; [3,2:14,6]), $p = 0,025$, U-критерий Манна-Уитни) (Таблица 3.4, Рисунок 3.14)).

Таблица 3.4 Удельный вес фибробластов (%) в биоптатах ран пациентов с СДС, для лечения которых применялась ультразвуковая кавитация, P [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	p
Край	8,7; [3,2:14,6]	15,7; [11,7:20,3]	0,002
Дно	6,5; [2,8:12,6]	3,7; [2,2:4,8]	0,013

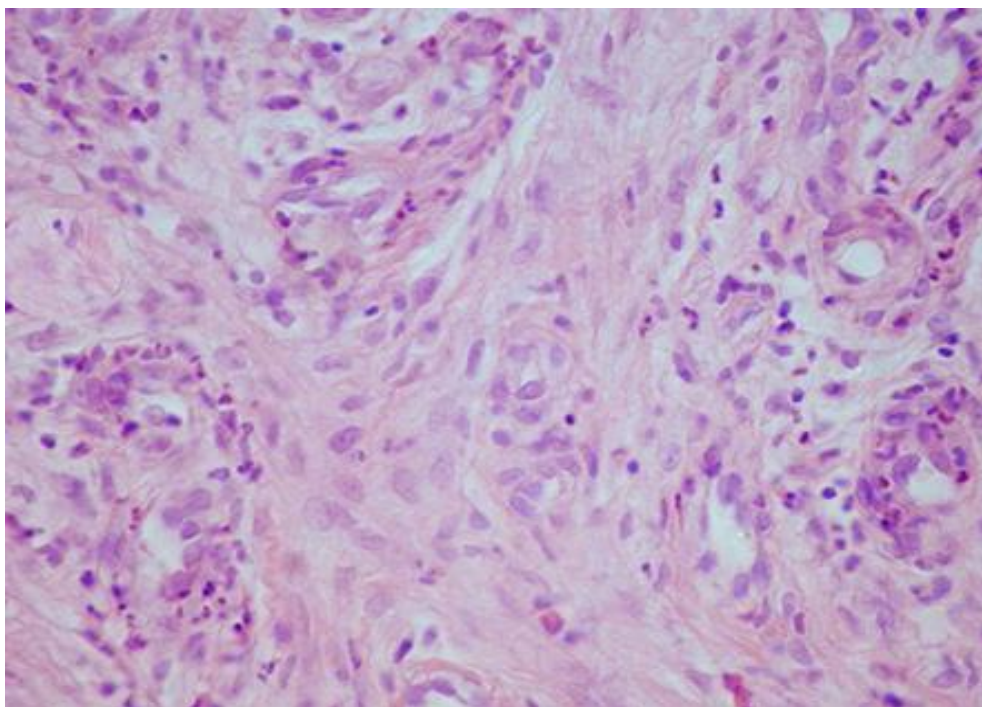


Рисунок 3.14- Группы фибробластов в дерме края раны пациента 2-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

Однако формирование грануляций в области дна раны происходило на фоне увеличения удельной площади ОАВ, что может быть связано с повышенной проницаемостью сосудов ГМЦР. Данный факт подтверждают меньшая численность микрососудов сосудов при большем их среднем диаметре (Рисунок 3.15). Фибробласты дна ран наблюдались в 1,77 раза реже, чем у больных до

лечения ($P=3,7\%$; $[2,2;4,8]$), $P=6,5\%$; $[2,8;12,6]$), $p=0,013$; U-критерий Манна-Уитни).

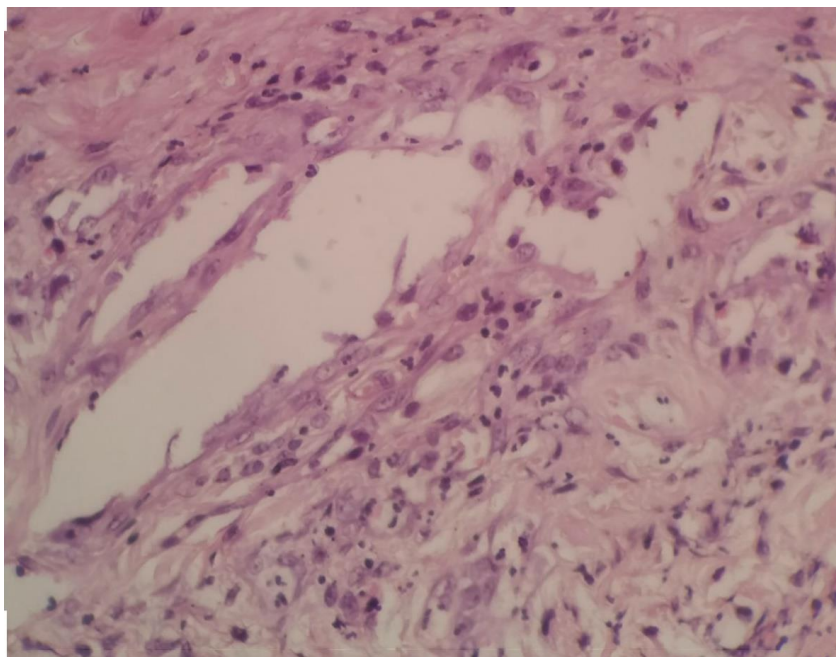


Рисунок 3.15- Расширенные сосуды ГМЦР в области дна раны пациента 2-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 600$

Отношение удельных площадей тканевых элементов ЛИ:ПКВ:ОАВ:ГМЦР в области краев ран имело вид 17:33:18:32, а в области дна ран - 21:30:25:24, что подтверждает усиление гидропического компонента воспаления в формирующейся грануляционной ткани (Рисунок 3.16).

В группе больных, у которых для лечения которых применялись лазеро- и озонотерапия (3-я группа), сохранялись признаки лейкоцитарной инфильтрации краев раны и уменьшение ее в направлении дна ран. Однако степень развития грануляционной ткани была менее выраженной, чем во 2-й группе. Так, в области краев раны удельная площадь грануляционной ткани составила в среднем 29,6% (против 32,1% до лечения; $p>0,05$), а в центре ран удельная площадь грануляционной ткани превысила таковой до лечения в 1,53 раза ($p=0,023$) (Рисунок 3.17). В 9% препаратов дна раны отмечались небольшие по площади участки некротического детрита.

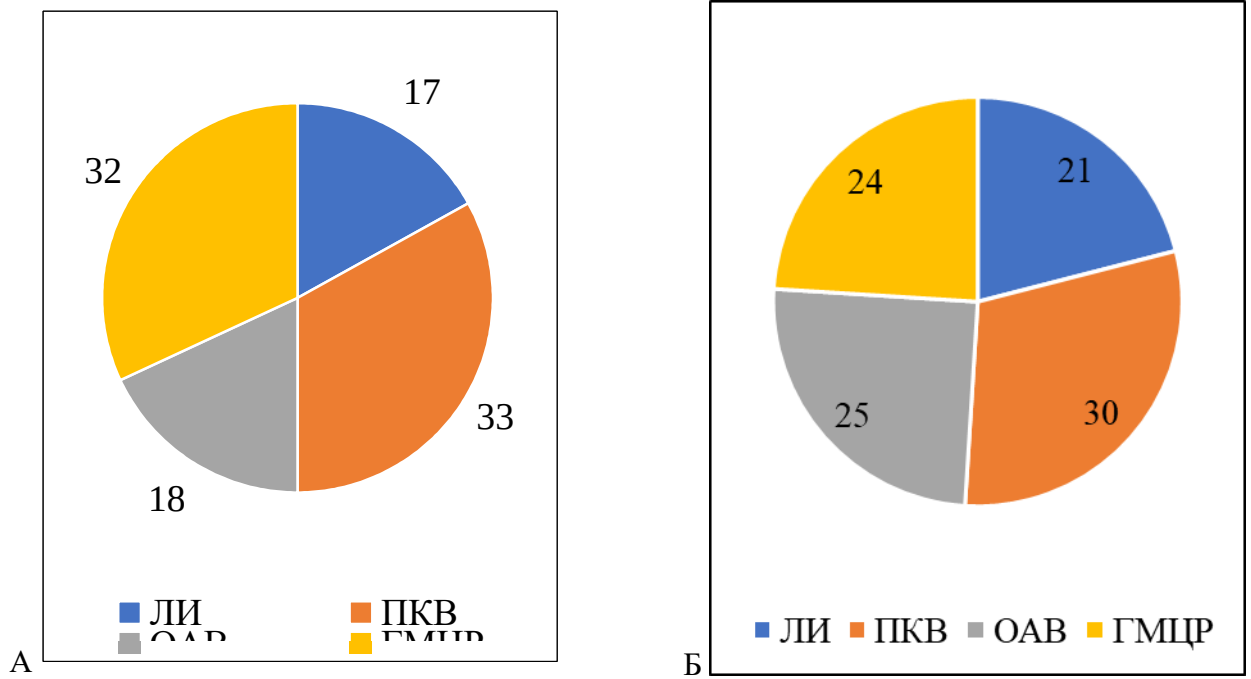


Рисунок 3.16- Удельная площадь тканевых элементов (%) в области краев раны (а) и дна раны (б) у пациентов 2-й группы после лечения путем ультразвуковой кавитации

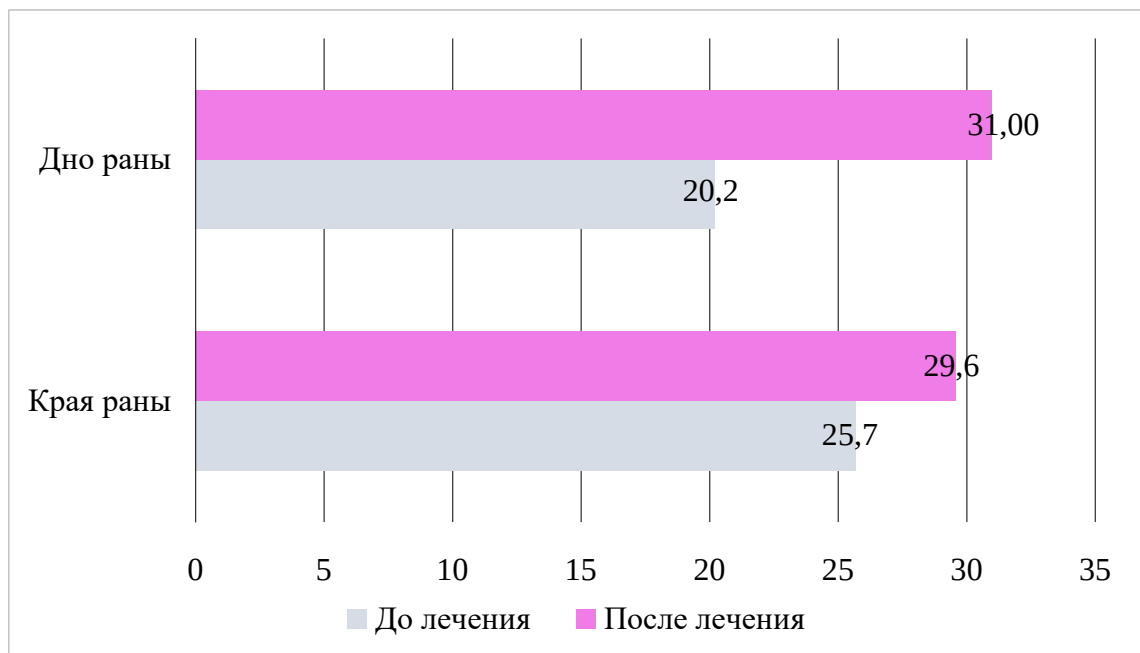


Рисунок 3.17-Удельная площадь грануляционной ткани (%) в области краев и дна раны у пациентов 3-й группы в динамике лечения

В области дна ран нейтрофилы регистрировали в 2,1 раза реже у больных 3-й группы ($P = 20,8\%$; [11,4:30,3]), чем у пациентов до лечения ($P=43,8\%$; [37,2:52,9]), $p=0,028$; U-критерий Манна-Уитни) (Таблица 3.5, Рисунок 3.18). При этом в области краев раны отмечали сходную динамику количества нейтрофильных гранулоцитов.

Таблица 3.5 -Удельный вес нейтрофильных гранулоцитов (%) в биоптатах ран пациентов с СДС, для лечения которых применялись лазеро- и озонотерапия, P [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	p
Край	65,7; [56,4:70,8]	53,8; [40,9:63,5]	0,038
Дно	43,8%; [37,2:52,9]	20,8; [11,4:30,3]	0,019

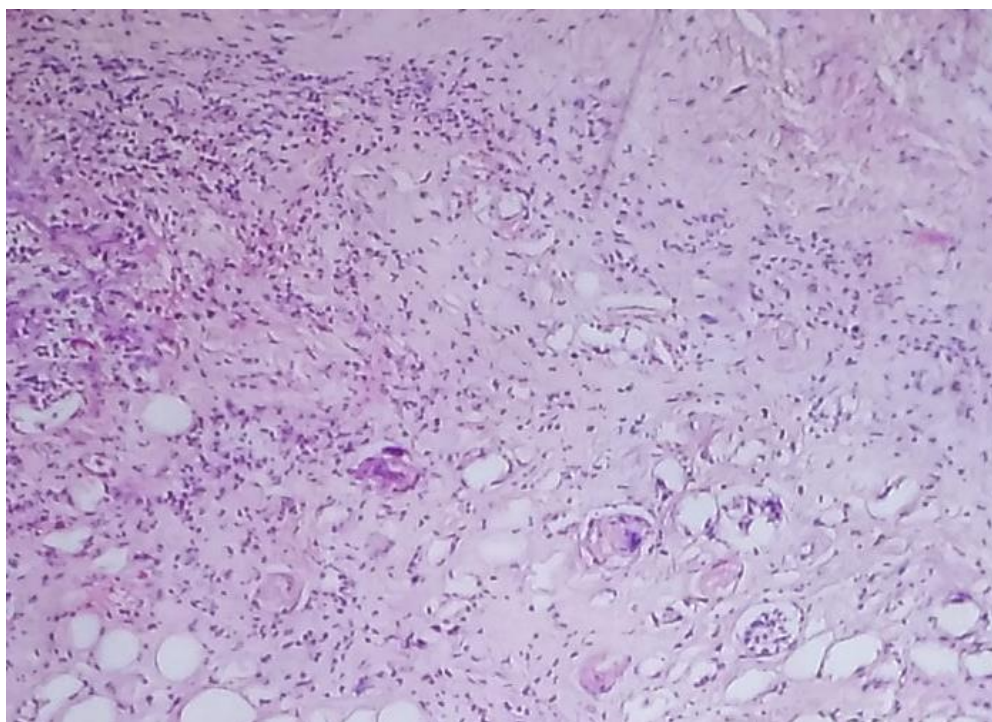


Рисунок 3.18- Слабая нейтрофильная инфильтрация дна раны у пациента 3-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Фибробласты выявляли чаще в области краев ран - в 3,81 раза ($P=33,2\%$; [17,7:49,5]), чем до лечения ($P=8,7\%$; [3,2:14,6], $p = 0,019$; U-критерий Манна-Уитни) (табл.3.6). Характерным было доминирование популяции лимфоцитов над

макрофагами в краях ран и сходно низкая численность лимфоцитов и макрофагов в области дна раны. Признаки эпителизации были наименее выраженными по сравнению с другими видами физического воздействия (2-я, 3-я группы) и встречались в 14% препаратов.

Таблица 3.6 Удельный вес фибробластов (%) в биоптатах ран пациентов с СДС, для лечения которых применялись лазеро- и озонотерапия, Р [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	р
Край	8,7; [3,2:14,6]	33,2; [17,7:49,5]	0,019
Дно	6,9; [3,1:10,4]	7,5; [3,4:12,6]	0,013

Отношение удельных площадей тканевых элементов ЛИ:ПКВ:ОАВ:ГМЦР в области краев ран имело вид 19:50:11:20, а в области дна ран - 25:49:9:17, что подтверждает преимущественное увеличение численности фибробластов на фоне низкой степени гидратации и слабо формирующейся грануляционной ткани в области краев ран (Рисунки 3.19,3.20) .

У пациентов 4-й группы, для лечения которых применялись стандартные схемы (4-я группа) на 8 сутки в биоптатах тканей раны выявили скопление гемосидерина, локальные признаки как острого, так и хронического воспаления, увеличение удельной площади грануляционной ткани в области краев ран в 41% препаратов. Увеличилось в 2,9-4,1 раза ($p<0,05$) количество эпителиальных клеток в области краев раны в 32% препаратов. Снижались явления экстравазации эритроцитов, исчезали «фибриновые манжетки» вокруг сосудов ГМЦР (Рисунок 3.21).

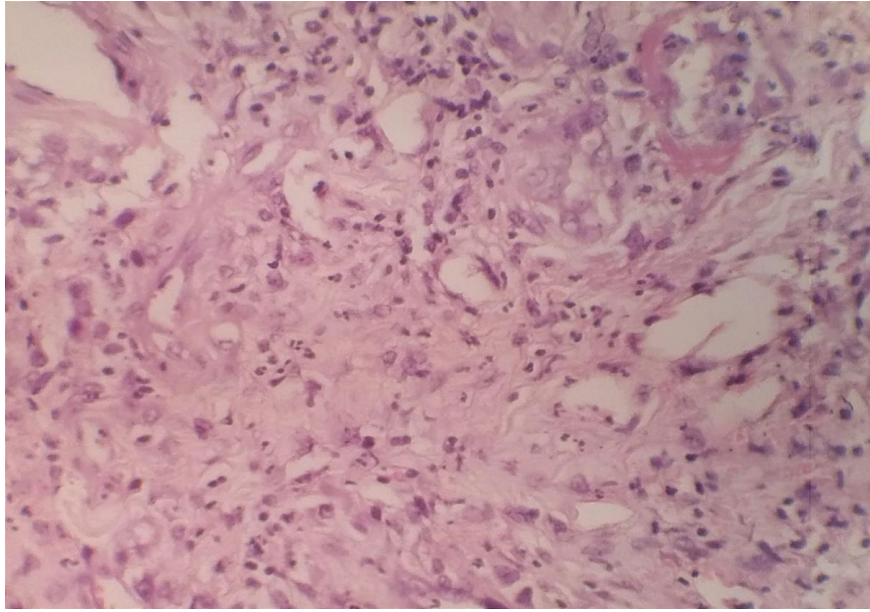


Рисунок 3.19-Фибробласты в области края раны у пациента 3-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

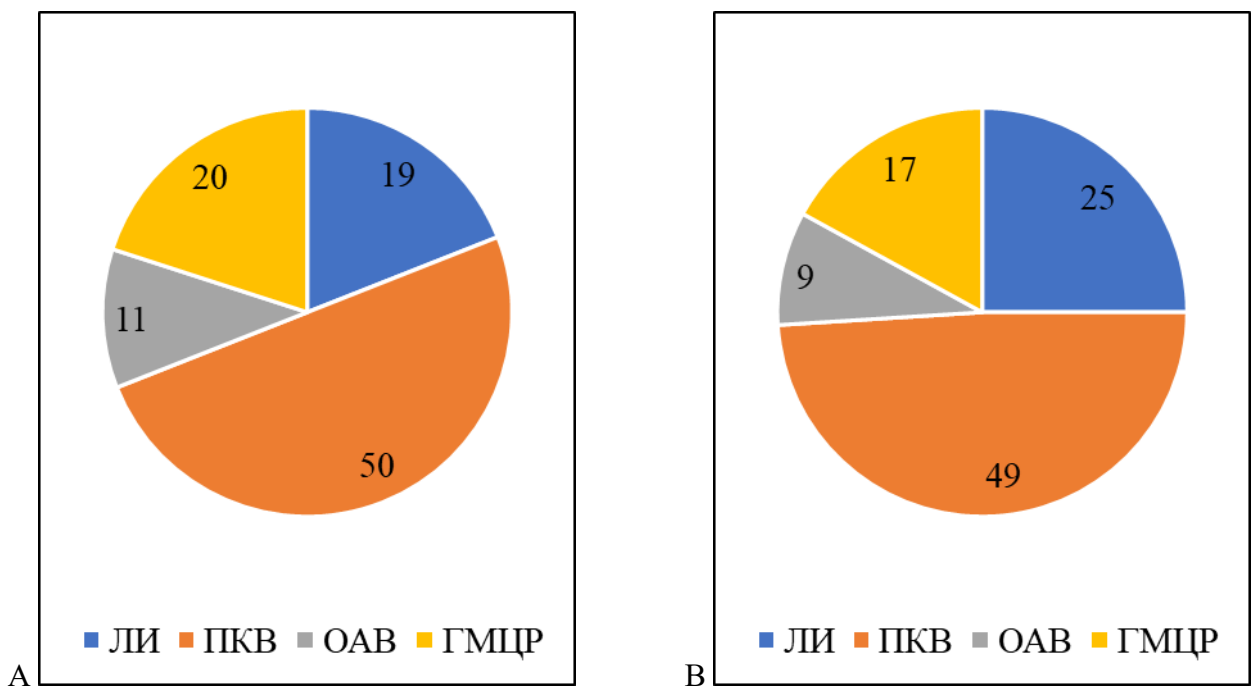


Рисунок 3.20 - Удельная площадь тканевых элементов (%) в области краев раны (а) и дна раны (б) у пациентов 3-й группы после применения лазеро- и озонотерапии

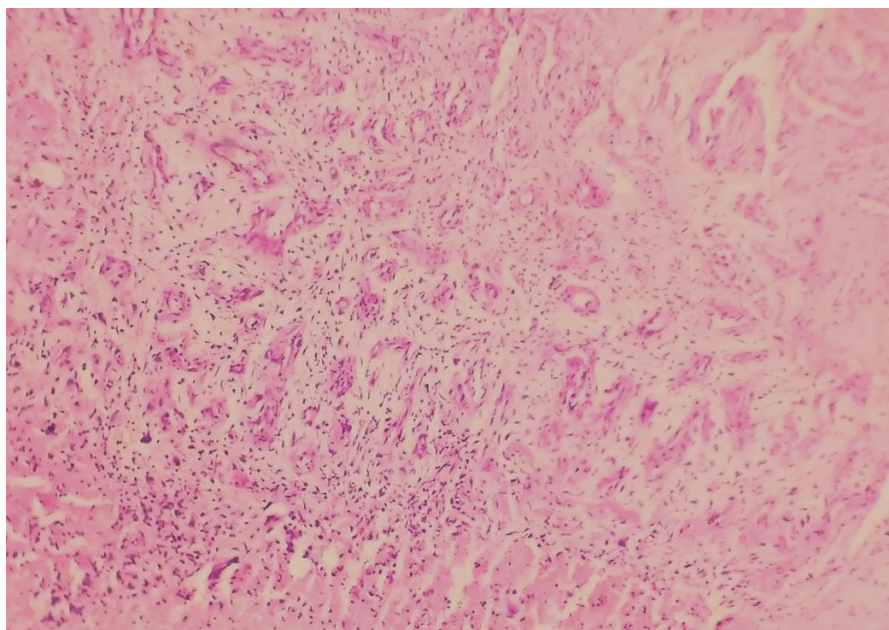


Рисунок 3.21- Сосуды ГМЦР в зоне дна раны пациента 4-й группы после лечения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Обращала на себя внимание инертность грануляций в области краев раны по сравнению с таковыми до лечения (Рисунок 3.22). Напротив, в области дна раны незначительно возросла удельная площадь грануляционной ткани (в 1,5 раза, $p=0,037$), тогда как численность сосудов ГМЦР в ней возросла по сравнению с таковой до лечения в среднем в 2,8 раза ($p<0,001$).

Лейкоцитарные инфильтраты в дерме краев раны сохранялись, однако снижалась численность нейтрофилов в 1,36 раза ($P = 48,2\%$; [37,9:57,9] против $P = 65,7\%$; [56,4:70,8] до лечения), плазмоцитов (в 1,7 раз, $p=0,046$), возрастал удельный вес макрофагов и лимфоцитов (соответственно в 3,86 и 2,2 раза, $p<0,001$).

Сравнительный анализ количества нейтрофилов в области дна раны продемонстрировал тенденцию к незначительному увеличению у больных 1-й группы в 1,15 раза ($P = 50,4\%$; [36,5:62,9]) по сравнению с таковой у больных до лечения ($P = 43,8\%$, [37,2:52,9], $p=0,077$) (Таблица 3.7). Характерным было доминирование популяции лимфоцитов над макрофагами в краях ран и сходно низкая численность лимфоцитов и макрофагов в области дна раны.

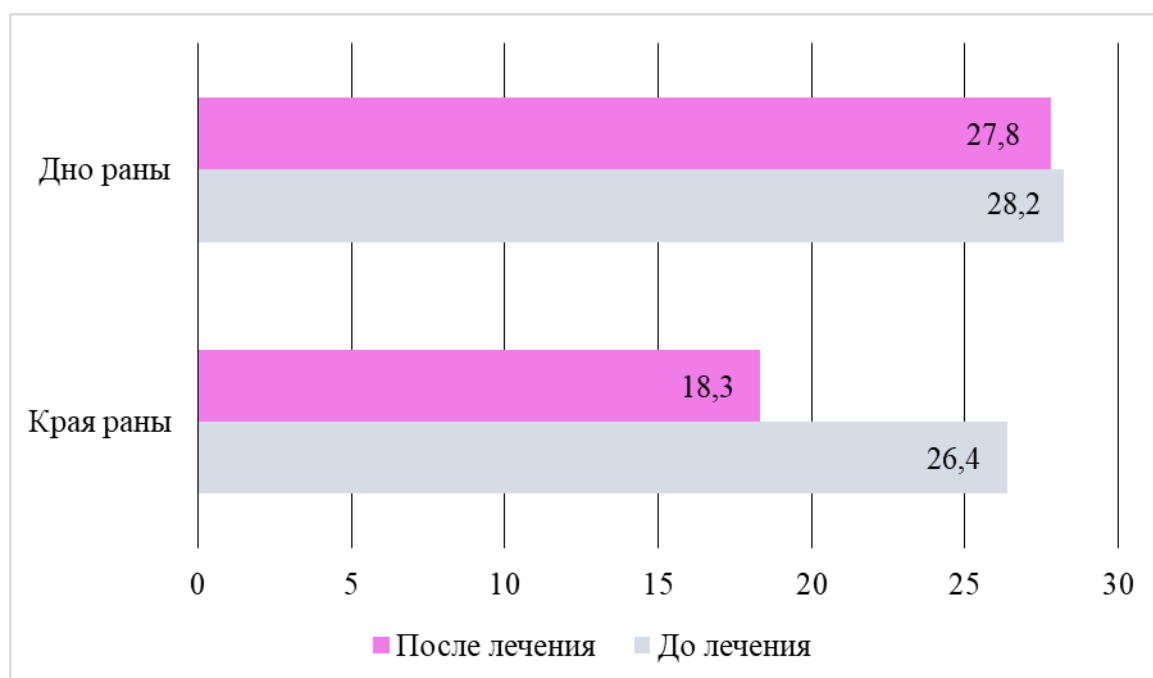


Рисунок 3.22- Удельная площадь грануляционной ткани (%) в области краев и дна раны у пациентов 4-й группы в динамике лечения

Таблица 3.7 Удельный вес нейтрофильных гранулоцитов (%) в биоптатах ран пациентов с СДС, для лечения которых применялись лазеро- и озонотерапия, P [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	p
Край	65,7; [56,4:70,8]	53,8; [40,9:63,5]	0,038
Дно	43,8%; [37,2:52,9]	20,8; [11,4:30,3]	0,019

Удельный вес и характер распределения клеток фибробластического дифферона претерпевал незначительные изменения по сравнению с таковыми до лечения - частота выявления фибробластов в области краев ран после лечения недостоверно ($P = 9,2\%$; [5,2:14,1]), чем до лечения ($P = 8,3\%$; [3,0:13,9], $p = 0,019$; U-критерий Манна-Уитни) (Таблица 3.8). Аналогичная картина имела место в биоптатах дна раны. Признаки эпителизации были наименее выраженными по сравнению с другими видами физического воздействия (1-3-я группы) и встречались в 14% препаратов.

Таблица 3.8 Удельный вес фибробластов (%) в биоптатах ран пациентов 4-й группы, P [95 % ДИ]

Область раны	До лечения	После лечения	p
Край	8,3; [3,0:13,9]	9,2; [5,2:14,1]	0,095
Дно	6,5; [4,4:9,2]	7,3; [3,9:11,8]	0,077

Отношение удельных площадей тканевых элементов краев раны изменился по сравнению с таковым до лечения - ЛИ:ПКВ:ОАВ:ГМЦР имел вид 28:33:20:19, тогда как в области дна ран данный показатель достоверно не изменялся (Рисунок 3.23).

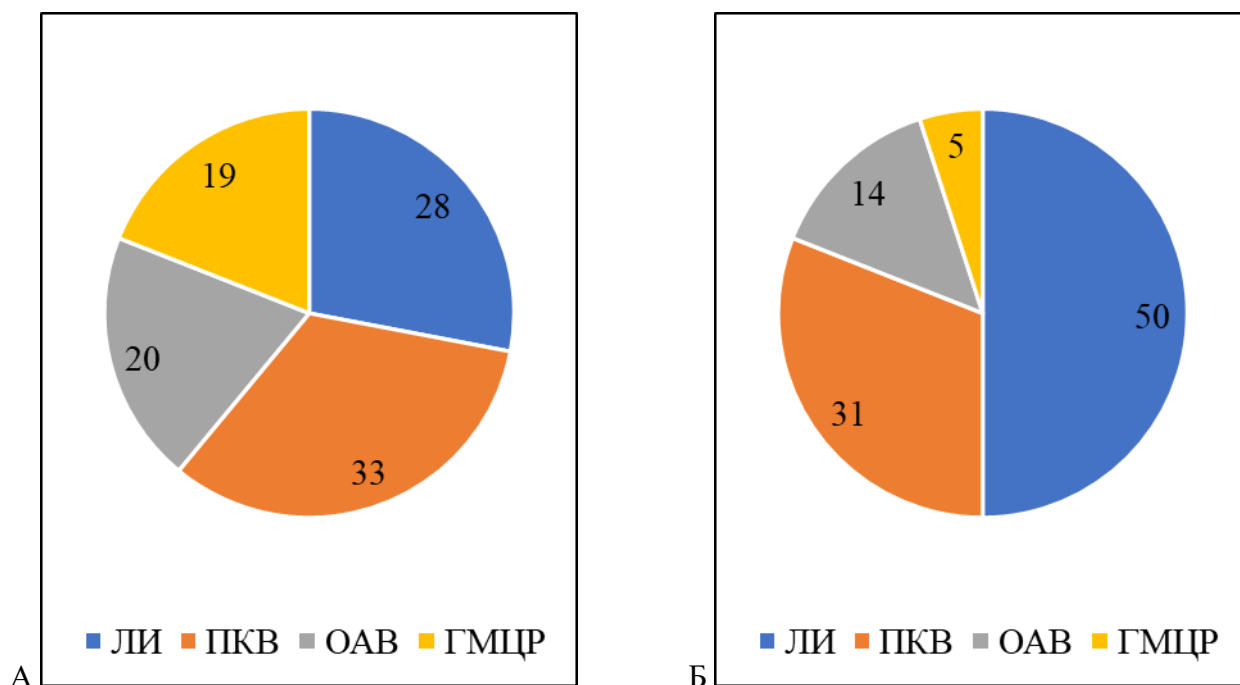


Рисунок 3.23 - Удельная площадь тканевых элементов (%) в области краев раны (а) и дна раны (б) у пациентов 3-й группы после применения лазеро- и озонотерапии

Это было связано с сохранением лейкоцитарно-некротического детрита в области дна ран в 55% случаев. Описанная картина свидетельствует о сохранении признаков хронического воспаления и неэффективного ангиогенеза.

При бактериологическом контроле результаты бактериологического исследования раневого отделяемого были положительными у всех пациентов в данной выборке.

При этом у 75 больных (46,3(2,9)%) флора представлена монокультурой.

У 87 пациентов (53,7(3,9)%) микробный пейзаж был представлен ассоциациями микроорганизмов.

При изучении флоры, представленной монокультурой, было выявлено, что большинство идентифицированных микроорганизмов составили грамположительные микроорганизмы – 52 (69,3(5,3)%), среди которых чаще всего определялся золотистый стафилококк – 39 человек (75,0(6,0)%). Кроме золотистого стафилококка, также были отмечены зеленящий стрептококк – у 8 пациентов (15,4(5,0)%) и эпидермальный стафилококк – у 5 человек (9,6(4,1)%).

Грамотрицательная монокультура была выделена у 23 больных (30,7(5,3)%). В ряду грамотрицательных бактерий преобладали кишечная палочка – 11 случаев (47,8(10,4)%) и протей – 12 человек (52,2(10,4)%).

Микробный пейзаж смешанной флоры в основном был представлен ассоциациями микроорганизмов: золотистый стафилококк и кишечная палочка – 21 случай (24,1(4,6)%), золотистый стафилококк и синегнойная палочка – 32 случая (36,8(5,2)%), протей и синегнойная палочка – 12 случаев (13,8(3,7)%), золотистый стафилококк, протей и синегнойная палочка – 22 случая (25,3(4,7)%).

С целью верификации полученных данных, для сравнительного анализа брались только наиболее часто встречающиеся микроорганизмы, представленные монокультурой и микробными ассоциациями: золотистый стафилококк, кишечная палочка, золотистый стафилококк и синегнойная палочка, синегнойная палочка и протей.

Исследование чувствительности к антибиотикам, показало, что наиболее эффективными препаратами, как к грамположительным, так и к грамотрицательным микроорганизмам были полусинтетические пенициллины (амоксиклав), цефалоспорины 2-4 поколений (цефазолин, цефотаксим,

цефоперазон, цефепим), производные орнидазола (метрогил) и клиндамицин (далацин Ц), а также антибиотики резерва (меропенем, ванкомицин, тиенам).

В 57% случаев микробный пейзаж раны был представлен ассоциациями микроорганизмов. Золотой стафилококк и кишечная палочка выявлены у 24,6% больных, золотистый стафилококк и синегнойная палочка – в 36,8%, протей и синегнойная палочка – у 25,3% больных.

До начала лечения раны во всех наблюдениях характеризовались высокой бактериальной обсемененностью (10^{7-8} КОЕ/1г ткани). Уменьшение уровня бактериальной обсеменённости тканей раны ниже критического (10^5 КОЕ/г) при лазеротерапии достигалось в среднем к 3-м суткам против 7-х суток при традиционных методах местного лечения ран ($p < 0,001$); при УЗ-кавитации и VAC-терапии – к 5 суткам. На 7-е сутки лечения после курса лазеротерапии (3 группа) пациенты с микробной колонизацией не встречались, степень бактериальной обсемененности ран пациентов 1-й, 2-й, 4-й групп составляла в среднем $10^2 - 10^3$ микробных клеток на 1 г ткани.

При изучении динамики микробной обсемененности гнойного очага в ходе лечения выявлено, что под действием физических методов воздействия (лазеротерапия, озонотерапии и лечения отрицательным давлением) быстрее происходит снижение его микробной обсемененности по сравнению с традиционными методами лечения ($p < 0,001$). Наблюдаемый бактерицидный эффект оказался более выраженным при использовании лазеротерапии.

Выводы:

1. Сравнительный морфологический анализ краев и дна ран до и после лечения различными методами физического воздействия показал наибольшую эффективность VAC-терапии, что подтверждается наибольшей степенью развития грануляционной ткани, ликвидацией некротического детрита, новообразованием сосудов ГМЦР и признаками эпителиации тканевого дефекта. Кроме того, при любых видах физического воздействия эффективность заживления тканевых дефектов повышается при высокой степени нейтрофильной инфильтрации краев раны и ее уменьшении по мере смещения к дну раны.

2. У больных 1-й группы к 8 суткам VAC-терапии по краям ран грануляционная ткань достоверно в 1,75 раза чаще встречалась (в среднем 47,5% против 27,1% случаев до лечения; $p=0,009$), а в центре ран грануляционная ткань достоверно преобладала ($p=0,001$).

3. Лейкоцитарная инфильтрация краев ран у пациентов 1-й группы была достоверно в 1,27 раза выше, чем при традиционном лечении (4-я группа) (в среднем 85,4% против 62,3% случаев; $p=0,010$).

4. Уменьшение уровня бактериальной обсеменённости тканей раны ниже критического (10^5 КОЕ/г) при лазеротерапии достигалось в среднем к 3-м суткам против 7-х суток при традиционных методах местного лечения ран ($p<0,001$); при УЗ-кавитации и VAC-терапии – к 5 суткам.

ГЛАВА 4. НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ОПЕРАЦИЙ НА СОСУДАХ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

В данной главе рассмотрены результаты лечения 170 пациентов, которым были выполнены реконструктивно-восстановительных операции (РВО) на сосудах в условиях отделения сосудистой хирургии ДОКТМО. Все пациенты страдали сахарным диабетом, окклюзионно - стенотическими поражениями бедренно - подколенно - берцового сегмента, хронической ишемией нижних конечностей в стадии ишемических болей покоя и наличием язвенно - некротических дефектов кожных покровов. После выполнения РВО пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от типа подготовительных вмешательств перед пластическим закрытием дефекта. В первой группе было 45 человек, которым были выполнены РВО в объёме открытых и эндоваскулярных вмешательств, а впоследствии показаны и выполнено VАС - дренирование зоны язвенно - некротического дефекта. Вторая группа представлена 42 пациентами, у которых применялась ультразвуковая кавитация во время хирургической обработки ран. Третью группу составили 43 больных, для лечения которых применялись лазеро- и озонотерапия. В четвертую группу вошло 40 пациентов, для лечения которых применялись стандартные схемы лечения.

Возраст больных составлял от 52 до 82 лет (64,33(4,33)). Длительность заболевания сахарным диабетом составила от 0,2 до 36 лет (11,23(5,65)). Уровень гликозилированного гемоглобина составлял от 5,6 до 10,1ммоль/л.

В первой группе оперировано 45 пациентов. Выполнено 28 открытых реконструктивных операций, 13 эндоваскулярных вмешательств, 4 гибридные реваскуляризирующие операции в объёме ангиопластики – стентирования и традиционного бедренно - подколенного шунтирования аутовеной или протезом PTFE.

Во второй группе оперировано 42 пациента. Выполнено 30 открытых реконструктивных операций, 10 эндоваскулярных вмешательств, 2 гибридные реваскуляризирующие операции в объёме ангиопластики + БПШ (бедренно-подколенное шунтирование) и ангиопластика + эндартерэктомия из НПА (наружная подвздошная артерия).

В третьей группе оперировано 43 пациента. Выполнено 27 открытых реконструктивных операций, 13 эндоваскулярных вмешательств, 3 гибридные реваскуляризирующие операции – РЭД (рентгенэндоваскулярная дилатация) подвздошных артерий со стентированием бедренно- берцовой артерии + аутовенозное шунтирование бедренно-берцового сегмента.

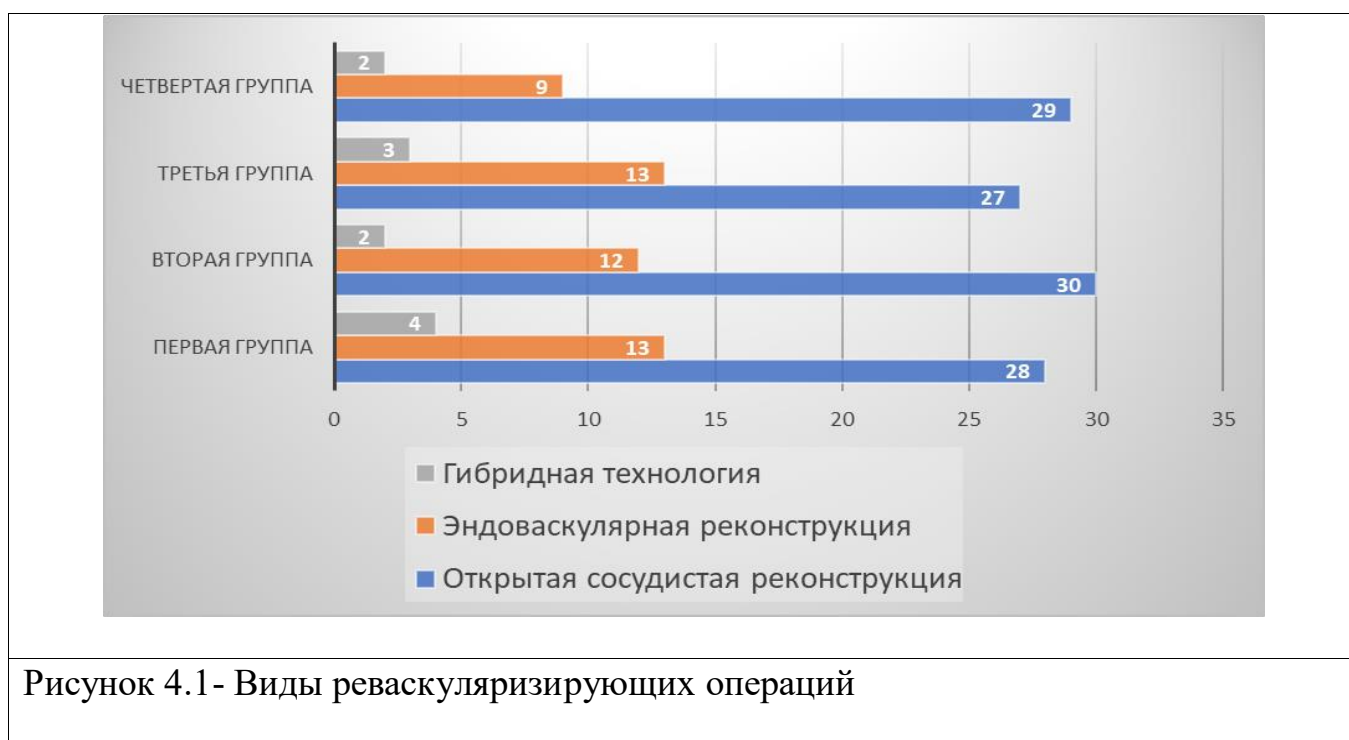
В четвертой группе оперировано 40 пациентов. Выполнено 29 открытых реконструктивных операций, 9 эндоваскулярных вмешательств, 2 гибридные реваскуляризирующие операции – РЭД берцовых артерий со стентированием бедренно-подколенной артерии + аутовенозное шунтирование бедренно-подколенного сегмента (Таблицы 4.1,4.2, Рисунок 4.1.).

Таблица 4.1- Виды реваскуляризирующих операций

Условия и виды реваскуляризирующих операций	Группы пациентов, количество оперативных вмешательств			
	Первая группа n=45	Вторая группа n=42	Третья группа n=43	Четвертая группа n=40
Открытая сосудистая реконструкция	28	30	27	29
Эндокаскулярная реконструкция	13	10	13	9
Гибридная технология	4	2	3	2
ВСЕГО	45	42	43	40

Таблица 4.2- Характер открытых реконструктивно-восстановительных операций на сосудах

Характер оперативного вмешательства	ГРУППЫ БОЛЬНЫХ			
	Первая группа n=45	Вторая группа n= 42	Третья группа n=43	Четвертая группа n=40
Аорто-бедренные				
аорто-бедренное бифуркационное	1	1	2	2
аорто- глубокобедренное бифуркационное	1	2	2	2
аорто-бедренное	2	1	2	2
Подвздошно-бедренные				
подвздошно- глубокобедренное	1	2	1	-
наружно-подвздошно- глубокобедренное	1	1	-	2
Бедренно-подколенные				
БПШ проксимальное	8	9	8	10
Бедренно-подколенное шунтирование in situ	6	5	5	6
БПШ дистальное	3	4	3	2
Бедренно-берцовые				
Бедренно- переднеберцовое	2	1	1	-
Бедренно- заднебольшеберцовое	2	2	1	2
Бедренно- малоберцовое	1	1	-	1
ВСЕГО	28	30	27	29



Раны и язвы систематически очищали от некротических масс и гнойного экссудата с помощью антисептиков, специализированных методов – VAC-дренирования, УЗ - кавитации. У пациентов четырех групп с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы и ишемией нижних конечностей использовали первичные критерии отбора для определения объёмов оперативного вмешательства: клинические и инструментальные признаки ишемии нижних конечностей, поражение тканей стопы на фоне окклюзионно - стенотического процесса в артериях голени. Ситуации, которые были признаны корабельными: поражение тканей стопы без утраты кожи на подошвенной поверхности и проксимальнее плюсневых костей, без вовлечения голеностопного сустава.

Для определения локализации и характера окклюзионно - стенотических поражений выполняли инструментальные исследования: 1) конвенциональная ангиография; 2) КТ – ангиография; 3) сочетание обеих методик.

Характер поражения тканей стопы в исследуемой группе пациентов представлен в Таблице 4.3.

Таблица 4.3 -Характер поражения тканей стопы в исследуемой группе пациентов

Характер поражения	1 группа n= 45	2 группа n=42	3 группа n=43	4 группа n=40
Трофические язвы 1 пальца	16	14	16	11
Трофические язвы 5 пальца	10	12	10	12
Трофические язвы 2-4 пальцев	13	11	10	9
Трофические язвы в месте предыдущих операций	6	5	7	8
Всего:	45	42	43	40

Наиболее распространённые реконструктивно - восстановительные операции в бедренно - подколенно берцовом сосудистом сегменте включают такие вмешательства: бедренно - подколенное шунтирование проксимальное и дистальное (выше или ниже щели коленного сустава), бедренно – берцовое шунтирование, профундопластика, бедренно - стопное шунтирование. Считается, что открытая шунтирующая операция показана в том случае, если по каким-то причинам невозможно проведение эндоваскулярного вмешательства (анатомические особенности, протяженность поражения, доступность гибридной операционной, экономическая целесообразность) или если после эндоваскулярной процедуры состояние кровообращения в нижней конечности продолжает ухудшаться. Актуальна проблема послеоперационного раннего и позднего тромбоза шунта, встречающееся в 30-55% случаев от общего числа всех операций шунтирования. Та же проблема актуальна и для эндоваскулярной методики – там

ретромбозы в основном обусловлены наличием стеноза сосудистого русла выше или ниже имплантации стента более чем на 50%, неадекватная антикоагулянтная терапия, использование слишком длинных стентов.

Дискутабелен вопрос о применении изолированной профундопластики в лечении ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза, в связи с этим методика рекомендована пациентам с тяжелым течением синдрома диабетической стопы, в основном для уменьшения степени ишемической боли покоя. Виды эндоваскулярных вмешательств представлены в Таблице 4.4.

Таблица 4.4 -Виды эндоваскулярных вмешательств

Характер поражения	1 группа n= 45	2 группа n=42	3 группа n=43	4 группа n=40
Балонная ангиопластика	10	9	10	7
Стентирование	6	7	5	6

Анатомические зоны транслюминальных эндоваскулярных операций представлены в Таблице 4.5.

Таблица 4.5 - Анатомические зоны транслюминальных эндоваскулярных операций

Анатомические зоны	1 группа n=45	2 группа n=42	3 группа n=43	4 группа n=40
Наружная подвздошная артерия	1	-	1	-
Поверхностная бедренная артерия	4	3	4	2
Задняя большеберцовая артерия	2	3	1	1
Передняя большеберцовая артерия	1	1	2	1
Малоберцовая артерия	1	-	1	1

Продолжение Таблицы 4.5				
Две артерии голени	3	3	2	2
Две артерии разных сегментов	1	2	2	2
Всего:	13	12	13	9

Определяли эффективность оперативного вмешательства и сроки закрытия раневого дефекта в зависимости от сосудистой реконструкции, которая выполнялась пациенту, а также специализированных методов очистки раневой поверхности. В 1 группе пациентов, которым выполнялась VAC - терапия, в сочетании с реконструкцией бедренно - подколенного сегмента добились наилучших результатов – появления грануляций уже на 8,1(0,56) день, удовлетворительных показатели кровотока по данным УЗДГ и физикального обследования. Наглядно хуже результаты были в группе пациентов, которым были применены стандартные схемы лечения – средний срок появления грануляций составил 12,4 (0,56), что на 4 суток больше, чем в 1-й группе пациентов (Таблица 4.6).

Таблица 4.6- Сроки появления грануляций и степень заживления раны при использовании специализированных методов подготовки раневой поверхности, М (SD) стандартное отклонение

Виды реваскуляризирующих операций	Сроки появления грануляций (день) и степень заживления раны, методы ухода за раневой поверхностью			
	VAC – терапия	УЗ кавитация	Лазеро-, озонотерапия	Стандартная схема лечения
Аорто – бедренная реконструкция	8,4 (0,56)	9,3 (0,56)	10,9 (0,56)	12,3 (0,56)
Бедренно – подколенное шунтирование	8,1 (0,56)	9,2 (0,56)	10,1 (0,56)	12,4 (0,56)

Продолжение Таблицы 4.6

Бедренно – берцовое шунтирование	8,2 (0,56)	9,1 (0,56)	10,5 (0,56)	12,2 (0,56)
Ангиопластика	8,3 (0,56)	9,3 (0,56)	10,9 (0,56)	12,3 (0,56)
Стентирование	8,5 (0,56)	9,1 (0,56)	10,5 (0,56)	12,8 (0,56)
Среднее значение	8,7	9,6	10,1	12,7

Открытые и эндоваскулярные реконструктивные операции при синдроме диабетической стопы нейроишемической формы являются особо эффективными и надежными. Купирование ишемии нижних конечностей позволяет снизить процент инвалидизации у данной категории пациентов. При многоэтажных поражениях артерий нижних конечностей окклюзионно - стенотического характера улучшить приток крови в стопу становится сложнее, тем не менее шанс сохранить опорную функцию конечности и избежать ампутации довольно высок. Использование специализированных технологий подготовки и очистки раневой поверхности – VAC - дренирования, УЗИ - кавитации, использование лазеро- и озонотерапии позволяет добиться более прогрессивного и быстрого заживления язвенно – некротического дефекта, сократить до минимума вероятность послеоперационных тромботических осложнений и сосудистых катастроф, сократить общий срок госпитализации пациента в сосудистом стационаре.

Выводы:

1. В 1 группе пациентов, которым выполнялась VAC - терапия, в сочетании с реконструкцией бедренно - подколенного сегмента добились наилучших результатов лечения. Проксимальное бедренно - подколенное шунтирование

аутовеной в сочетании с методом VAC -дренирования позволило добиться более ранних сроков заживления раны и появления грануляций, сокращение времени нахождения в стационаре в среднем на 4 суток.

2. Выявлена взаимосвязь между поражением сегмента бассейна артерии нижних конечностей и послеоперационным результатом лечения. При поражении поверхностной бедренной артерии и восстановлении кровотока путем наложения шунта в проксимальную или дистальную порцию подколенной артерии, заживление язвенно - некротических дефектов проходило быстрее, с наличием активных грануляций, появлением четкой демаркационной линии. Восстановление проходимости в берцовом сегменте посредством подколенно – берцовых шунтирований давало менее позитивные результаты, так как сам факт поражения берцовых сосудов, которые являются путями оттока, является неблагоприятным прогностическим признаком.

3. Стандартные схемы лечения в лечении больных с синдромом диабетической стопы показали значимо более худшие результаты лечения в сравнении со специализированными методами VAC - терапии и УЗ - кавитации. Применение этих методов у данной категории пациентов позволило снизить риски послеоперационных тромботических осложнений, инфицирования протеза, и сократить сроки госпитализации в сосудистом стационаре.

ГЛАВА 5. ОСОБЕННОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ И ПОЧЕЧНЫХ ПОРАЖЕНИЙ У ОБСЛЕДОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С СДС

В данной главе охарактеризованы основные сердечно-сосудистые и почечные поражения, имевшиеся у обследованных больных.

На Рисунке 5.1 представлена частота различных сердечно-сосудистых нарушений и некоторых микрососудистых осложнений СД у наблюдавшихся больных с СДС.

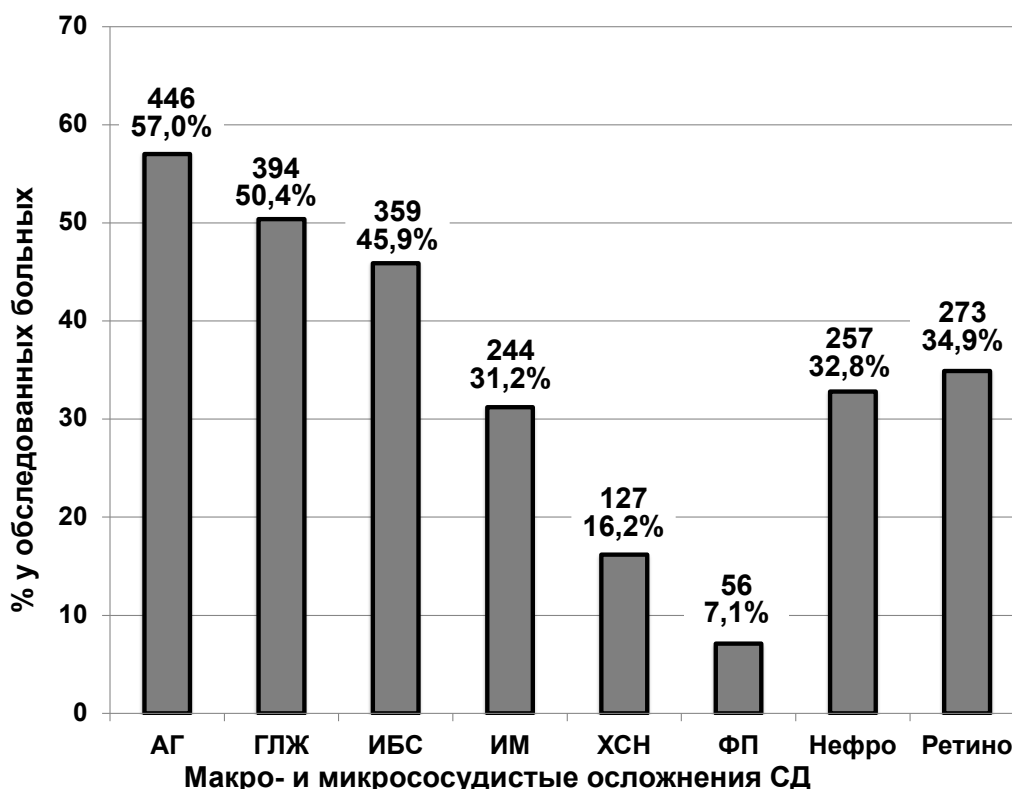


Рисунок 5.1- Частота некоторых макро- и микрососудистых осложнений диабета у обследованных лиц с СДС. Примечания: ИМ – перенесенный инфаркт миокарда в анамнезе; ФП – фибрилляция предсердий; Нефро – диабетическая нефропатия; Ретино – диабетическая ретинопатия

Как видно из этого рисунка, артериальная гипертензия (АГ) имела место в 446 (57,0%) случаях, гипертрофия левого желудочка (ЛЖ) – в 394 (50,4%), ишемическая болезнь сердца (ИБС) была представлена в 359 наблюдениях (45,9%), причем перенесенный инфаркт миокарда (ИМ) присутствовал в анамнезе у 244 (31,2%) больных. Различные формы хронической сердечной недостаточности (ХСН) имелись в 127 (16,2%) случаях, разные варианты фибрилляции предсердий (ФП) – в 56 (7,1%), диабетическая нефропатия – в 257 (32,8%) и диабетическая ретинопатия – в 273 (34,9%) наблюдениях.

Далее более детально будут охарактеризованы отдельные виды сердечно-сосудистых и почечных поражений, во взаимосвязи с особенностями имевшегося у больных с СДС и с тактикой его лечения.

5.1. Синдром диабетической стопы, ишемическая болезнь сердца и гиперлипидемия

ИБС была представлена у 359 (45,9%) больных с СДС. Диагноз ИБС устанавливали, как на основании клинических данных о наличии у больных синдрома стенокардии, так на данных анамнеза о перенесенных ИМ, а в 86 случаях также на данных коронарной ангиографии о значимом стенозировании одной или более коронарных артерий. Стенокардия I-II функциональных классов (ФК) присутствовала в 112 (14,3%) случаях, III ФК – в 57 (7,3%) случаях. Перенесенный ранее ИМ был зарегистрирован в 244 (31,2%) наблюдениях, причем он был представлен как ИМ с патологическим зубцом Q на электрокардиограмме в 104 (13,3%) и ИМ без зубца Q – в 140 (17,9%) случаях; ИМ имел переднюю локализацию в 152 (19,4%) и заднюю локализацию – в 92 (11,8%) случаях; повторный ИМ был зарегистрирован у 58 (7,4%) больных.

Таблица 5.1 иллюстрирует распространенность случаев ИБС в целом и ИМ, в частности, среди больных с различными формами СДС.

Таблица 5.1-Доли лиц с ИБС и ИМ среди больных с разными формами СДС, абсолютное количество больных и % от их количества в группе

Группы больных с СДС	Общее количество больных	ИБС, абс.(%)	ИМ, абс.(%)
Формы СДС:			
ишемическая	156	44 (28,2) ←	27 (17,3) ←
нейропатическая	290	111 (38,3) ⇐	76 (26,2) ⇐
смешанная	336	204 (78,6) ←	141 (41,9) ←

Примечание: стрелками указаны достоверные различия, $p < 0,001$.

Данные Таблицы 5.1.отображают, что доли лиц как с ИБС, так и с ИМ существенно зависели от формы СДС. Так, среди лиц со смешанной формой СДС ИБС имела место в 204 (78,6%) наблюдений, перенесенный ИМ – в 141 (41,9%) наблюдений, что оказалось статистически значимо выше, чем при нейропатической форме – 111 (38,3%) и 76 (26,2%), соответственно, а также при ишемической форме СДС – 44 (28,2%) и 27 (17,3%) случаев, соответственно, все $p < 0,001$.

Далее представлены результаты исследования параметров липидного спектра у больных с СДС. Гипер- и дислипидемии отводят существенную роль в развитии и прогрессировании ИБС, в т.ч. у лиц с диабетом. Мнения о роли липидных нарушений в формировании и прогрессировании непосредственно язвенных диабетических поражений стоп пока являются предметом дискуссий .

Оценка параметров липидного спектра была выполнена у 367 больных. При этом оценивали уровни таких параметров, как общий холестерин, холестерин липопротеидов низкой и высокой плотности, триглицериды (анализаторы биохимические АБхФк – 02 – «НПП-ТМ» (Би Ан), Россия и «Olympus AU-640», Германия; наборы производства Россия и Молдова). Определяемые иммуноферментным методом концентрации Аполипопротеина А1 (Human Apo A1 ELISA Kit, США), аполипопротеина В (Human Apo B ELISA Kit, США) и липопротеина (а) (Human Lp(a) ELISA Kit, США) оценивали у 84 человек.

В Таблице 5.2 показаны значения изучавшихся параметров липидного спектра в группах с разными формами СДС.

Таблица 5.2- Уровни показателей липидного спектра у лиц с разными формами СДС, М (SD) стандартное отклонение

Показатели	Формы СДС		
	Ишеми- ческая	Нейропа- тическая	Смешанная
ОХС, ммоль/л	6,35 (1,07)	6,74 (1,11) *	6,91 (1,23) *
ХС ЛПНП, ммоль/л	4,13 (0,76)	4,32 (0,91)	4,84 (0,71) *
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,16 (0,21)	1,02 (0,19) *	0,90 (0,21) *
ТГ, ммоль/л	1,56 (0,37)	1,79 (0,38)	1,91 (0,42) *
АпоА1, мг/мл	1,49 (0,19)	1,31 (0,14)	1,22 (0,16) *
АпоВ, мг/мл	1,04 (0,11)	1,13 (0,21)	1,23 (0,11) *
Lp(a), мкг/мл	116,4 (21,3)	149,5 (34,9) *	183,1 (51,7) *

Примечания: ОХС – общий холестерин; ХС ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности; ХС ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности; ТГ – триглицериды; АпоА1 - Аполипопротеин А1; АпоВ - Аполипопротеин В; Lp(a) – липопротеин (а); * - различия между группами с разными формами СДС достоверны, $p < 0,001$;

Как видно из этой таблицы, средние уровни общего холестерина, холестерина липопротеидов низкой плотности, триглицеридов, Аполипопротеина В и липопротеина (а) статистически значимо увеличивались, а концентрации холестерина липопротеидов высокой плотности и Аполипопротеина А1 – отчетливо снижались от ишемической формы СДС к нейропатической и, особенно, к смешанной, что можно интерпретировать как свидетельство важной роли липидных нарушений в патофизиологии язвенных поражений стоп при диабете. Так, уровни холестерина липопротеидов низкой плотности при ишемической форме СДС составили 4,13 (0,76) ммоль/л, что оказалось ниже, чем при нейропатической форме – 4,32 (0,91) ммоль/л, и особенно при смешанной форме СДС – 4,84 (0,71) ммоль/л, и особенно при смешанной форме ДС – 4,84 (0,71) ммоль/л, $p < 0,001$. Подобные различия между формами имели место и для

содержания триглицеридов – соответственно 1,56 (0,37), 1,79 (0,38) и 1,91 (0,42) ммоль/л; Аполипопротеина В – соответственно 1,04 (0,11), 1,13 (0,21) и 1,23 (0,11) мг/мл, а также для липопротеина (а) – соответственно 116,4 (21,3), 149,5 (34,9) и 183,1 (51,7) мкг/мл, все $p < 0,001$.

Далее представилось важным оценить связь между применявшимися у лиц с СДС режимами послеоперационного лечения, с одной стороны, и ИБС / ИМ, с другой стороны, включая особенности, проводившейся у них кардио- и вазопротекторной терапии. Отметим, что среди больных с СДС необходимую им полноценную органопротекторную терапию в силу различных причин регулярно принимали лишь менее половины, что отражает как общую тенденцию с низкой приверженностью больных к врачебным рекомендациям, так отчасти связано и со сложной общественно-политической и психоэмоциональной обстановкой в Донбасском регионе в настоящее время. Поскольку из всех кардио- и вазопротекторных подходов, применяемых у больных с ИБС, статистически значимую связь с результатами лечения СДС удалось выявить лишь для гиполипидемических препаратов, приведем данные лишь по этому классу лекарственных средств.

Среди всех 782 больных с СДС 480 человек (61,4%) никаких гиполипидемических препаратов регулярно не принимали, хотя по данным амбулаторных карт прием этих средств врачами им ранее был рекомендован, у них также отсутствовал необходимый лабораторный контроль параметров липидного спектра. На регулярной основе при соответствующем лабораторном контроле липидемии и уровней печеночных показателей 213 больных (27,2%) принимали низкие дозы статинов (аторвастатин в дозах 10-20 мг/сут или розувастатин 5-10 мг/сут), а 89 (11,4%) получали умеренные или высокие дозы статинов (аторвастатин 40-80 мг/сут или розувастатин 20 мг/сут) в сочетании с препаратами урсодезоксихолевой кислоты (750-1750 мг/сут в зависимости от массы тела). Оценка параметров в динамике на фоне не менее чем 4-месячного приема гиполипидемических препаратов, была выполнена у 367 больных.

При оценке липидных показателей в динамике среди лиц, получавших низкие дозы статинов, степень гиполипидемического эффекта была относительно невысокой, в отличие от тех, кто получал эти препараты в умеренной / высокой дозе в сочетании с урсодезоксихолевой кислотой. Так, в подгруппе, получавшей низкие дозы статинов, степень снижения уровней холестерина липопротеидов низкой плотности составила в среднем 17,6 (5,6)% от исходных величин; триглицеридов, соответственно, 12,3 (3,5)% от исходных величин; что оказалось статистически значимо ниже, чем в подгруппе получавшей статины в умеренной / высокой дозе в сочетании с урсодезоксихолевой кислотой (УДХК) – соответственно 32,9 (5,4)% и 18,7 (3,2)%, все $p < 0,001$.

Обращает на себя внимание удовлетворительная переносимость лечения в обеих подгруппах, получавших гиполипидемическую терапии. Так, повышение уровней аминотрансфераз крови на $\geq 30\%$ в сравнении с исходными их значениями было отмечено в процессе применения статинов лишь у 3 (1,4%) больных, получавших низкие дозы статинов, и у 7 (7,9%) больных, принимавших статины в умеренной / высокой дозе в сочетании с урсодезоксихолевой кислотой. При этом, во всех этих случаях повышение уровней аминотрансфераз оказалось транзиторным и устранялось на фоне временного снижения дозировок статинов. Удовлетворительная печеночная переносимость умеренных / высоких доз статинов у достаточно уязвимого контингента больных с СДС в данном исследовании, может быть, по крайней мере отчасти, обусловлена сопутствующим применением такого классического гепатопротектора, которым является урсодезоксихолевая кислота. Умеренные и транзиторные мышечные побочные эффекты в виде миалгий небольшой выраженности были отмечены у 2 (0,9%) и у 5 (5,6%) больных, получавших низкие и умеренные / высокие дозы статинов, соответственно. Повышения уровней гликемии, которое можно было бы с уверенностью увязать с применением статинов, не было отмечено ни в одном из наблюдений.

Особый интерес представляют данные о связи результатов хирургического лечения больных с СДС с наличием ИБС и с особенностями гиполипидемической терапии, что демонстрируют Рисунки 5.2 и 5.3.

Как видно из этих рисунков, во всех группах больных с СДС, получавших разные варианты хирургического лечения, имела место практически однотипная связь его результатов с наличием в анамнезе перенесенного ИМ, а также с проведением лечения статинами и с его интенсивностью.

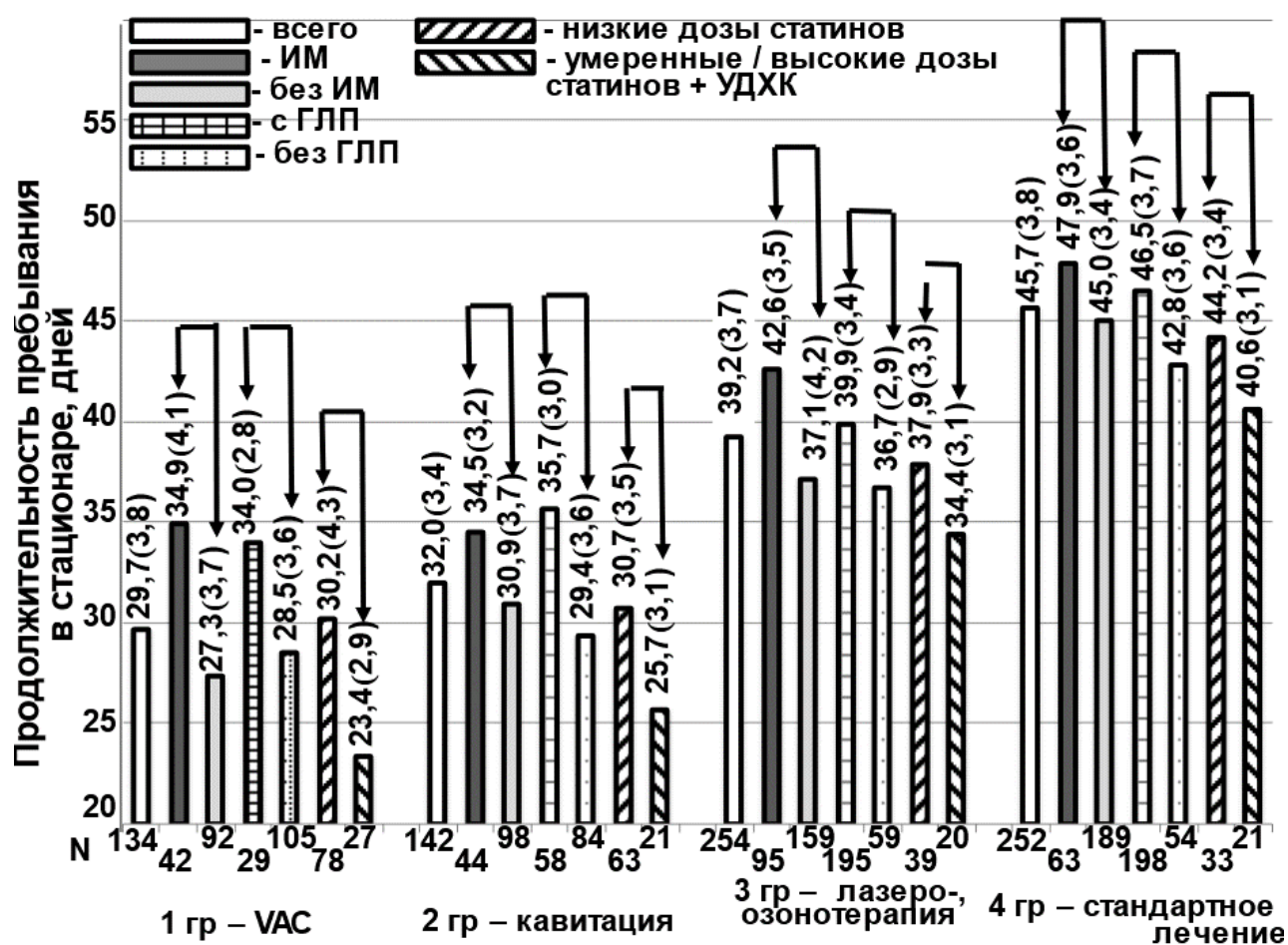


Рисунок 5.2- Продолжительность пребывания в стационаре больных с СДС, получавших разное лечение, М (SD) стандартное отклонение; N -количество больных в каждой подгруппе

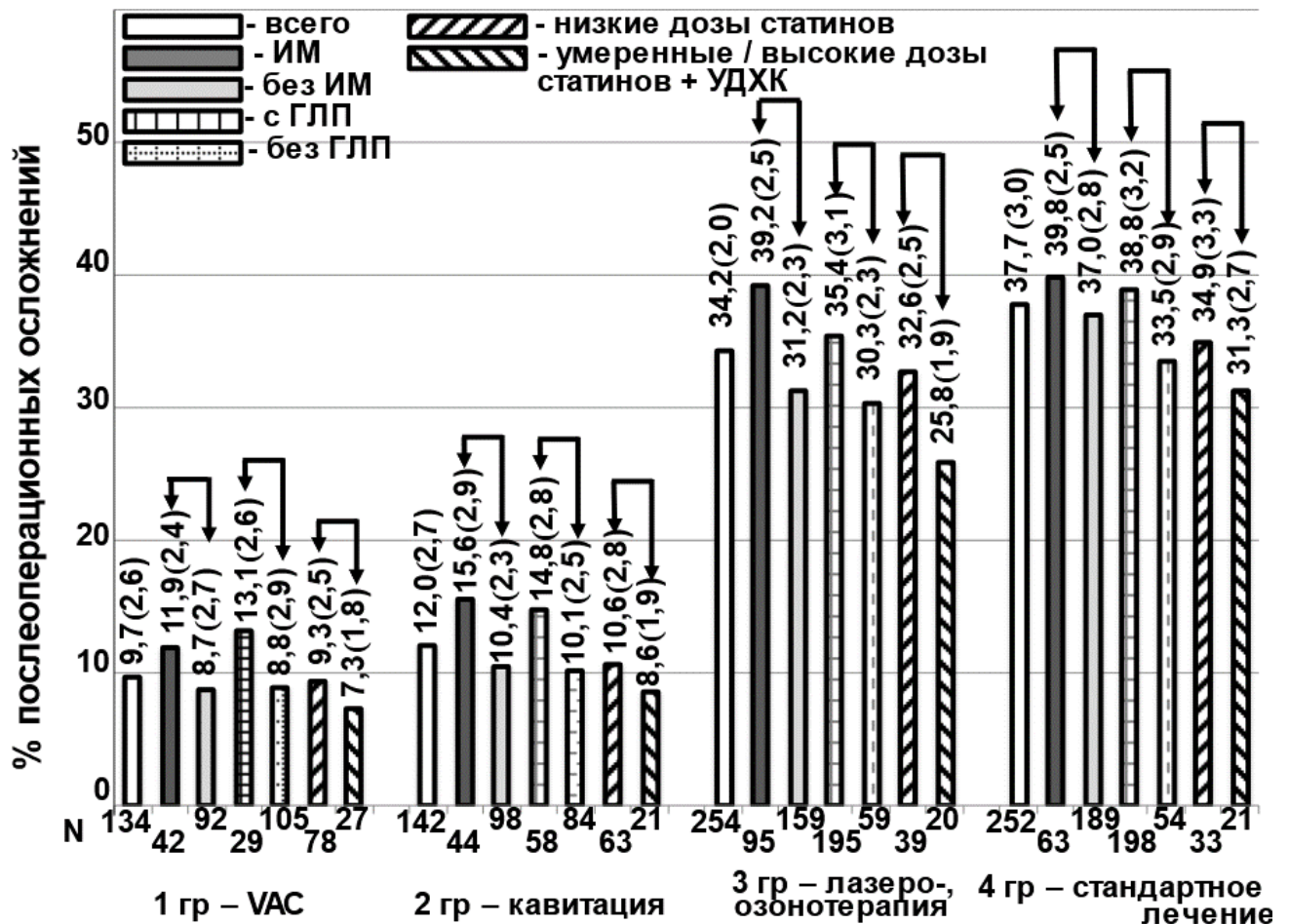


Рисунок 5.3-Процент послеоперационных осложнений у больных с СДС, получавших разное лечение, M(SD) стандартное отклонение; N -количество больных в каждой подгруппе

Так, среди лиц 1 группы (где для лечения применяли систему VAC-дренирования) средняя продолжительность пребывания в стационаре и процент послеоперационных осложнений оказались статистически значимо ниже у больных, ранее не переносивших ИМ (соответственно, 27,3 (3,7) койко- дней и 8,7 (2,7)%), в сравнении с теми, кто имел ИМ в анамнезе (соответственно, 34,9 (4,1) койко- дней и 11,9 (2,4)%); у больных, получавших гиполипидемическую терапию (соответственно, 28,5 (3,6) койко- дней и 8,8 (2,9)%), в сравнении с теми, кто этого лечения не принимал (соответственно, 34,0 (2,8) койко- дней и 13,1 (2,6)%); а также у тех, кто получал умеренные / высокие дозы статинов в сочетании с УДХК (соответственно, 23,4 (2,9) койко- дней и 7,3 (1,8)%), в сравнении с теми,

кто использовал низкие дозы статинов (соответственно, 30,2 (4,3) койко- дней и 9,3 (2,5)%), все $p < 0,001$.

Подобно этому, среди больных 2 группы (где во время хирургической обработки ран применяли ультразвуковую кавитацию) продолжительность пребывания в стационаре и процент послеоперационных осложнений были достоверно ниже у лиц без ИМ в анамнезе (соответственно, 30,9(3,70) койко- дней и 10,4(2,3)%), в сравнении с теми, кто ранее ИМ переносил (соответственно, 34,5 (3,2) койко- дней и 15,6(2,9)%); у больных, получавших гиполипидемическую терапию (соответственно, 29,4 (3,6) койко- дней и 10,1 (2,5)%), в сравнении с теми, кто ее не получал (соответственно, 35,7 (3,0) койко- дней и 14,8(2,8)%); а также у больных, получавших умеренные / высокие дозы статинов в сочетании с урсодезоксихолевой кислотой (соответственно, 25,7 (3,1) койко- дней и 8,6(1,9)%), в сравнении с лицами, принимавшими низкие дозы статинов (соответственно, 30,7 (3,5) койко- дней и 10,6 (2,8)%), все $p < 0,001$.

Аналогичные различия по продолжительности пребывания в стационаре и проценту послеоперационных осложнений в зависимости от перенесенного ранее ИМ и от характера проводимой гиполипидемической терапии имели место также в группе 3 (для лечения которых применяли лазеро- и озонотерапию в сочетании) и в группе 4 (для лечения которых в послеоперационном периоде использовали стандартные схемы лечения), см. Рисунки 5.2 и 5.3, все $p < 0,001$.

5.2. Синдром диабетической стопы и артериальная гипертония, фибрилляция предсердий и хроническая сердечная недостаточность

Для установления наличия АГ, ФП и ХСН, а также для выделения их классификационных характеристик использовали рекомендации Российской Ассоциации Кардиологов.

АГ имела место у 446 (57,0%) лиц с СДС. Она относилась к I стадии в 31 (4,0%) наблюдении, ко II стадии – в 134 (17,1%) и к III стадии – в 281 (35,9%) наблюдениях. АГ относилась к 1 степени в 76 (9,7%) случаях, ко 2 степени – в 266 (34,0%) и к 3 степени – в 104 (13,3%) случаях. Уровень сердечно-сосудистого

риска ввиду наличия диабета с СДС, а во многих случаях – и иных диабетических осложнений, у всех больных характеризовался как очень высокий.

ФП присутствовала у 56 (7,1%) больных; в 17 (2,2%) случаях она была пароксизмальной / персистирующей; в 39 (4,9%) – перманентной (постоянной). ХСН была представлена в 127 (16,2%) наблюдениях; в том числе с низкой фракцией выброса ЛЖ ($< 40\%$) – в 62 (7,9%) случаях, с промежуточной фракцией выброса ЛЖ (40-49%) – в 30 (3,8%), с сохранной фракцией выброса ЛЖ ($\geq 50\%$) – в 35 (4,5%) случаях. ХСН относилась к I функциональному классу в 23 (2,9%) наблюдениях, ко II функциональному классу – в 33 (4,2%) и к III функциональному классу – в 71 (9,1%) наблюдении.

В Таблицах 5.3 и 5.4 показаны доли лиц с АГ, ФП и ХСН среди больных с разными формами СДС. Как видно из этих таблиц, доли лиц со всеми этими сердечно-сосудистыми нарушениями статистически значимо зависели от формы СДС. При этом наибольшими были доли лиц с каждым из этих нарушений среди больных со смешанной формой СДС.

Таблица 5.3- Доли лиц с АГ и ФП среди больных с разными формами СДС, абсолютное количество больных и % от их количества в группе

Группы больных с СДС	Общее количество больных	АГ, абс. (%)	ФП, абс. (%)
Формы СДС:			
ишемическая	156	71 (45,5)	9 (5,8)
нейропатическая	290	136 (46,9)	18 (6,2)
смешанная	336	239 (71,1)	29 (8,6)

Примечание: стрелками указаны достоверные различия, $p < 0,001$.

Так, АГ имела место при ишемической форме СДС в 45,5% случаев, при нейропатической – в 46,9%, в то время как при смешанной она определялась достоверно чаще – в 71,1% случаев, $p < 0,001$.

ФП была представлена у 5,8% больных с ишемической формой СДС и у 6,2% - с ее нейропатической формой, и отчетливо чаще – у 8,6% при смешанной форме СДС, $p < 0,001$.

Представляются важными данные Таблицы 5.4, иллюстрирующие связь СДС с ХСН, как в целом, так и с более тяжелой категорией лиц с ХСН, имеющих ее III функциональный класс.

Таблица 5.4-Доли лиц с ХСН в целом и ХСН III функционального класса среди больных с разными формами СДС, абсолютное количество больных и % от их количества в группе

Группы больных с СДС	Общее количество больных	ХСН в целом, абс. (%)	ХСН III функционального класса, абс. (%)
Формы СДС:			
ишемическая	156	19 (12,1)	9 (5,8)
нейропатическая	290	36 (12,4)	20 (6,9)
смешанная	336	72 (21,4)	42 (12,5)

Примечание: стрелками указаны достоверные различия, $p < 0,001$

Здесь также имело место отчетливое повышение долей больных с этими сердечно-сосудистыми нарушениями по мере нарастания клинических проявлений СДС. Так, доля лиц с ХСН в целом оказалась наиболее высокой у лиц со смешанной формой СДС (21,4%) в сравнении с ее ишемической (12,1%) и нейропатической (12,4%) формами. Кроме того, ХСН III функционального класса также выявлялась достоверно чаще среди больных со смешанной формой СДС (12,5%) в сравнении с ишемической (5,8%) и нейропатической (6,9%), $p < 0,001$.

Полученные данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи всех изученных сердечно-сосудистых нарушений (включая ИБС, АГ, ФП и ХСН) с выраженностью клинических проявлений СДС, подчеркивают общность их патофизиологии и актуализируют необходимость настойчивого многокомпонентного органопротекторного лечения с участием специалистов

различного профиля (что в последние годы рядом исследователей обозначается удачным с нашей точки зрения термином «командный подход»).

При изучении связи обсуждаемых сердечно-сосудистых нарушений с результатами послеоперационного лечения в разных группах больных, наличия такой связи не было обнаружено для АГ и ХСН в целом. В то же время, для с ФП и ХСН III функционального класса подобная связь отмечена.

Как видно из Рисунков 5.4 и 5.5 (с целью обеспечения валидности подсчета на этих рисунках группы 1 и 2 объединены, также объединены группы 3 и 4), продолжительность пребывания больных в стационаре, а также процент послеоперационных осложнений оказались более высокими у лиц с ФП, а также с ХСН III функционального класса в сравнении с теми, у кого эти сердечно-сосудистые нарушения отсутствовали, все $p < 0,001$.

При этом подобная зависимость имела место среди больных, получавших различные варианты послеоперационного лечения, включая систему VAC-дренирования или ультразвуковую кавитацию (1 и 2 группы), так и в группах 3 и 4 (лазеро- и озонотерапия в сочетании и стандартные лечебные подходы). Однотипный вид связи между постоянной формой ФП и ХСН III функционального класса, с одной стороны, и результатами лечения, с другой стороны, подтверждает устойчивый характер неблагоприятного воздействия наличия этих нарушений на исход лечебных мероприятий.

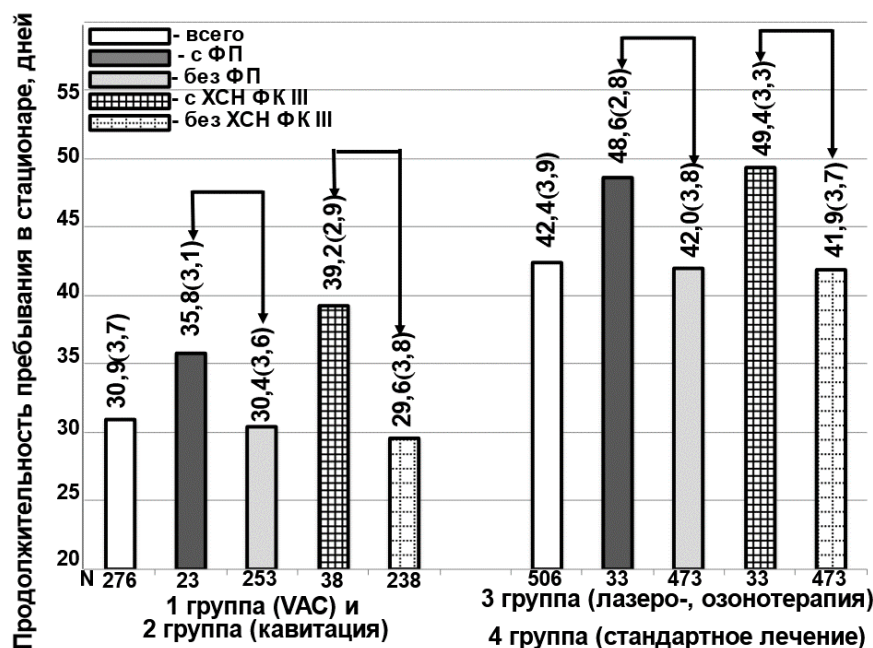


Рисунок 5.4 - Продолжительность пребывания в стационаре больных с СДС, получавших разное лечение, в зависимости от наличия ФП и ХСН III функционального класса (ФК), М (SD) стандартное отклонение; N -количество больных в каждой подгруппе; ФК – функциональный класс

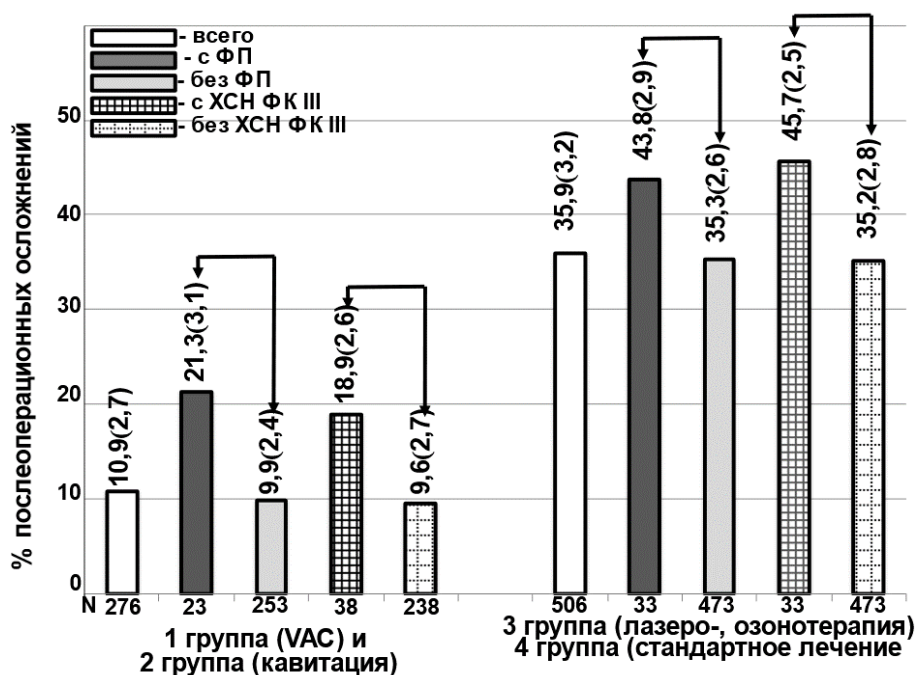


Рисунок 5.5- Процент послеоперационных осложнений у больных с СДС, получавших разное лечение, в зависимости от наличия ФП и ХСН III функционального класса (ФК), М (SD) стандартное отклонение; N -количество больных в каждой подгруппе; ФК – функциональный класс

5.3. Синдром диабетической стопы и диабетическая нефропатия

Диагноз диабетической нефропатии (ДНП) и ее стадии устанавливали на основании рекомендаций Ассоциации Нефрологов России. Наличие диабетической нефропатии констатировано у 257 (32,8%) наблюдавшихся больных с СДС. При этом 1 стадия хронического заболевания почек (с уровнями скорости клубочковой фильтрации – СКФ ≥ 90 мл/мин) имела место в 21 (2,6%) наблюдении, 2 стадия (при СКФ 60-89 мл/мин) – в 27 (3,4%) наблюдениях, 3 стадия (при СКФ 30-59 мл/мин) – в 133 (17,0%), 4 стадия (при СКФ 15-29 мл/мин) – в 62 (8,0%) и 5 стадия (при СКФ < 15 мл/мин - в 14 (1,8%) наблюдениях.

В Таблице 5.5 представлены доли больных с диабетической нефропатией в целом и ее 4-5 стадиями среди больных с разными формами СДС. Как видно из этой таблицы, наличие диабетической нефропатии имело место достоверно чаще при смешанной форме СДС (44,3%) в сравнении с нейропатической (25,5%) и ишемической (21,7%) ее формами; все $p < 0,001$. Кроме того, и доля больных с 4-5 стадиями диабетической хронической болезни почек среди лиц со смешанной формой СДС (13,7%) была достоверно выше, чем при нейропатической (9,0%) и, особенно, ишемической (2,6%); все $p < 0,001$.

Таблица 5.5- Доли лиц с диабетической нефропатией в целом и ее 4-5 стадиями среди больных с разными формами СДС, абсолютное количество больных и % от их количества в группе)

Группы больных с СДС	Общее количество больных	ДНП в целом, абс. (%)	ДНП 4-5 стадий, абс. (%)
Формы СДС:			
ишемическая	156	34 (21,7)	4 (2,6)
нейропатическая	290	74 (25,5)	26 (9,0)
смешанная	336	149 (44,3)	46 (13,7)

Примечания: ДНП – диабетическая нефропатия; стрелками указаны достоверные различия, $p < 0,001$

Далее был проведен анализ результатов послеоперационного лечения больных с СДС в различных группах в зависимости от имевшихся у них уровней СКФ (группы 1 и 2 и соответственно 3 и 4 при этом анализе объединены для обеспечения валидности подсчета, принимая во внимание относительную немногочисленность подгруппы лиц с СКФ < 30 мл/мин). При этом продолжительность пребывания в стационаре и процент послеоперационных осложнений оценивались отдельно для лиц с СКФ ≥ 60 мл/мин (573 больных), СКФ в пределах 30-59 мл/мин (133 больных) и СКФ < 30 мл/мин (76 больных). Данные этого анализа представлены на Рисунках 5.6 и 5.7.

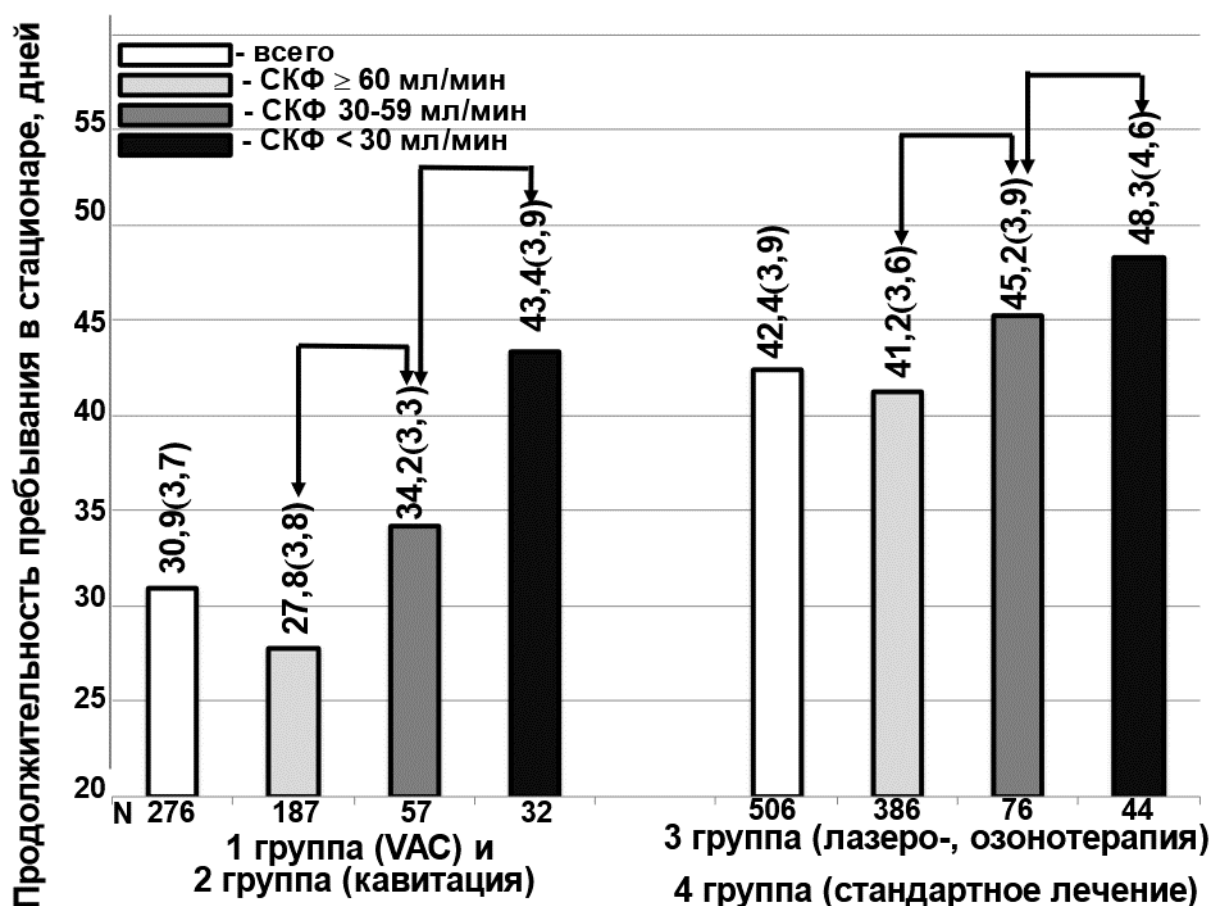


Рисунок 5.6- Продолжительность пребывания в стационаре у больных с СДС, получавших разное лечение в зависимости от уровня СКФ, М (SD) -стандартное отклонение; N -количество больных в каждой подгруппе; ФК – функциональный класс

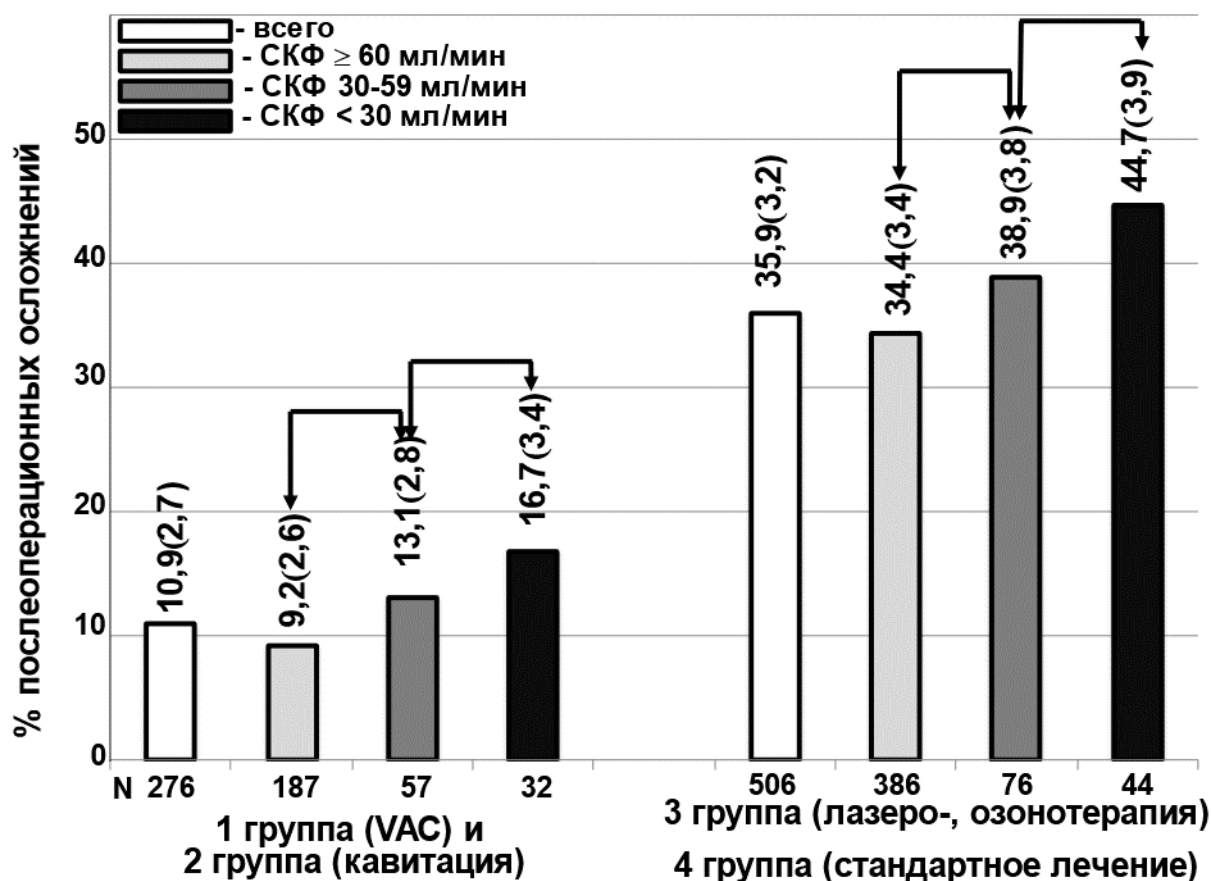


Рисунок 5.7 Процент послеоперационных осложнений у больных с СДС, получавших разное лечение в зависимости от уровня СКФ, М (SD) -стандартное отклонение; N -количество больных в каждой подгруппе; ФК – функциональный класс

Как показано на этих рисунках, средние уровни и продолжительности пребывания в стационаре, и процента послеоперационных осложнений, как это уже отмечалось выше для различных сердечно-сосудистых осложнений, демонстрировали отчетливую связь с уровнями СКФ во всех лечебных группах – от 1 до 4. Так, в 1 и 2 группах (где применялись система VAC-дренирования или ультразвуковая кавитация ран) и продолжительность пребывания в стационаре, и процент послеоперационных осложнений среди лиц с СКФ ≥ 60 мл/мин (соответственно, 27,8 (3,8) койко- дней и 9,2 (2,6)%) были значительно ниже, чем у больных с СКФ в пределах 30-59 мл/мин (соответственно, 34,2 (3,3) койко-дней и 13,1 (2,8)%) и, особенно, с СКФ < 30 мл/мин (соответственно, 43,4 (3,9) койко-дней и 16,7 (3,4)%), все $p < 0,001$. Подобные этому различия в результатах

лечения имели место и в группах 3 (лазеро- и озонотерапия) и 4 (стандартные лечебные подходы), все $p < 0,001$.

Полученные данные о связи диабетической нефропатии с особенностями клинической картины и тяжестью СДС, а также о зависимости результатов лечения больных с СДС от уровня СКФ позволяют говорить о взаимосвязи различных микрососудистых осложнений диабета между собой и об их взаимном неблагоприятном воздействии друг на друга. Эти результаты также подтверждают необходимость своевременного использования современных подходов к ренопротекции у лиц с СДС (а также у всех больных с СД в целом), что несомненно позволит улучшить результаты их комбинированного лечения.

В завершение настоящей главы может быть сделано следующее обобщение.

Полученные данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи СДС с макрососудистыми и другими микрососудистыми осложнениями диабета, а также выявленная зависимость результатов послеоперационного лечения СДС от наличия и выраженности сердечно-сосудистых и почечных нарушений подчеркивают необходимость участия в лечебном процессе врачей различных специальностей, включая наряду с хирургом, сосудистым хирургом и ортопедом также кардиолога, нефролога, невролога, а при последующем наблюдении за больным обязательно и врача общей практики. Необходимым является использование комбинированной лечебной тактики, включающей полноценную органопротекцию (включая кардио-, вазо- и ренопротекцию), что позволит обеспечить улучшение результатов лечения как собственно СДС, так и больного с СД в целом [Error! Reference source not found., Error! Reference source not found.].

Выводы:

1. Частота сердечно-сосудистых нарушений и диабетической нефропатии у больных ДС статистически значимо возрастает от ишемической / нейропатической формы к смешанной ее форме.

2. Уровни атерогенных показателей липидного спектра сыворотки крови (включая общий холестерин, холестерин липопротеидов низкой плотности, триглицериды, Аполипопротеин В и липопротеин (а) повышается с увеличением выраженности клинических проявлений СД, что свидетельствует о важной роли липидных нарушений в развитии язвенных поражений стоп при диабете.
3. Применение гиполипидемической терапии, особенно более интенсивной (включающей умеренные / высокие дозы статинов в сочетании с УДХК) способствовало уменьшению продолжительности пребывания в стационаре и снижению частоты послеоперационных осложнений во всех группах больных ДС, получавших разные виды послеоперационного лечения.
4. Лечение с использованием статинов, в том числе в умеренных / высоких дозах удовлетворительно переносилось больными ДС; достаточно приемлемой печеночной переносимости статинов способствовало сочетанное применение с адекватным гепатопротектором – УДХК.
5. Частота выявления перечисленных сердечно-сосудистых нарушений и ДНП статистически значимо возрастают от ишемической / нейропатической формы СДС к смешанной ее форме.
6. Продолжительность пребывания в стационаре и процент послеоперационных осложнений у больных с СДС были достоверно выше ($p < 0,001$) при наличии АГ, ФП, ХСН, ДНП в сравнении с теми, у кого эти сердечно-сосудистые нарушения отсутствовали.

ГЛАВА 6. КЛИНИКО-ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАЦИИ ЯЗВ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

6.1. Факторы роста и репарация раневых дефектов при синдроме диабетической стопы

Хронические раневые дефекты мягких тканей нижних конечностей образуются у 30-80 % больных с СД. Течение раневого процесса у преобладающего числа пациентов длительное, зачастую сопровождается болевым синдромом и распространением раневой инфекции, что приводит к выполнению ампутации конечности с последующим снижением качества жизни пациентов. Исследование роли факторов роста в патофизиологических процессах репарации язвенных дефектов при СДС являются актуальным при различных методах лечения. В исследование включены 125 (15,8(1,5)%) пациентов с СДС от общего числа больных. В качестве контрольной группы были исследованы 30 человек, которые могли быть отнесены к категории здоровых лиц. В зависимости от выбора методов лечения были выделены 4 группы: 1-я группа – с применением VAC-терапии (35 больных); 2-я группа (30 больных) – с УЗ-кавитацией; 3-я группа – с озоно- и лазеротерапией (30 больных), 4-я группа (30 больных) – с традиционным лечением без применения методов физического воздействия на раневой процесс. Динамика уровней факторов роста VEGFA, PDGF-BB, TGF- 1β в крови больных с СДС до и после лечения в сравнении с контрольной группой представлена в Таблице 6.1.

Таблица 6.1- Содержание факторов роста в крови больных в исследуемых группах

Показатель	Контроль (1) n=30	До лечения (2) n=125	После лечения (3) n=125	U, p
VEGFA, мЕ/мл	79,8 (58,1; 89,20) 7,2-159,5	690 (550; 800) 480-2000	210 (170;230) 130-506	$Z^{1-2}=-6,65$; $p^{1-2}<0,001$;
		(T) $Z^{2-3}=6,03$; $p^{2-3}<0,001$		$Z^{1-3}=-6,42$; $p^{1-3}<0,001$;

Продолжение Таблицы 6.1				
PDGF-BB, нг/мл	28,23 (20,5;35,4) 13,5-41,3	57,8 (46,98;67,5 5) 23,54-73,84	72,83 (65,65;80,23) 37,85-87,68	Z ¹⁻² =-5,97; p ¹⁻² <0,001; Z ¹⁻³ =-6,42; p ¹⁻³ <0,001
		(T) Z ²⁻³ =4,6; p ²⁻³ <0,001		
TGF-1β, пг/мл	18342 (16261 ; 20818,5) 12563-23860	25284 (24193; 26389) 22987-26974	35495 (32174,5; 37915,5) 23781-38697	Z ¹⁻² =-5,12; p ¹⁻² <0,001; Z ¹⁻³ =-5,27; p ¹⁻³ <0,001
		(T) Z ²⁻³ =4,13; p ²⁻³ <0,001		

Примечания: Формат отображения данных – Me (Q1;Q3), min-max; T – критерий Вилкоксона для оценки внутригрупповых различий; U – критерий Манна-Уитни для оценки различий между независимыми группами; Z, p – Z-статистика и достоверность различий. (U) Z^{1-2} , Z^{1-3} – критерий Манна-Уитни для сравнения уровней цитокинов у лиц контрольной группы (1) с группой до (2) и после лечения (3), соответственно; (T) Z^{2-3} – критерий Вилкоксона для сравнения уровней цитокинов в группах больных до (2) и после лечения (3), соответственно.

Анализ уровня фактора роста VEGFA у больных с СДС до лечения показал его достоверное увеличение в 8,65 раза ($p<0,001$) в сравнении с группой контроля и составил 690 (550; 800) мЕ/мл с min – 480, max – 2000. Наиболее выраженная экспрессия VEGFA, по нашему мнению, была вызвана длительными повреждениями тканей стопы, связанными с прогрессирующими гипоксией и ишемией на фоне метаболических нарушений в ране и на фоне диабетической микро- и макроангиопатии. Гипоксия усиливает экспрессию VEGFA в моноцитах, фибробластах, кератиноцитах, миоцитах и эндотелиальных клетках. Стимуляция неоангиогенеза восстанавливает перфузию тканей, микроциркуляцию и увеличивает напряжение кислорода в месте раны. В то же время пролиферация эндотелиоцитов приводила к утолщению стенки сосудов с нарушением доставки кислорода к поврежденным тканям.

После лечения больных с СДС содержание VEGFA достоверно уменьшалось до значений 210 (170;230) мЕ/мл, что было ниже в 3,3 раза по сравнению с показателями до лечения ($p<0,001$), но по отношению к группе контроля являлось достоверно увеличенным в 2.63 раза ($p<0,001$), свидетельствуя о присутствии тканевой гипоксии, инициирующей продукцию VEGFA, запускающего неоангиогенез, но в меньшей степени.

При СД возникает «диабетический парадокс», заключающийся в развитии патологического избыточного ангиогенеза сосудов в сетчатке глаза (диабетическая ретинопатия) и развитии недостаточного адаптивного ангио-артериогенеза в сердце и мышцах нижних конечностей, способствующий тяжелой ишемии, хроническим незаживающим диабетическим язвам.

Было установлено, что диапазон минимальных и максимальных значений VEGFA находился в пределах 480-2000 мЕ/мл. Анализ клинико-лабораторных данных пациентов с СДС показал, что практически у половины больных (45,83 %) регистрировали 10-кратное увеличение содержание VEGFA по сравнению с контрольным уровнем. Характерным для данной категории больных являлось значительное увеличение показателей HbA1c.

Проведенный корреляционный анализ зависимости VEGFA от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС показал наличие сопряженности с длительностью заболевания СД и уровнем HbA1c. Так, длительность заболевания СД составила 10 (10; 15) лет, min – до 1 года, max – 52 года и имела прямую корреляционную связь с концентрацией VEGF: чем дольше была длительность СД, тем выше уровень VEGFA ($r=0,55; p=0,005$), что согласовывалось с данными. Уровень HbA1c до лечения составил 8,8 (7,8-9,5) ммоль/л, после лечения – 8,3 (7,67-8,67) ммоль/л, корреляционная связь с VEGFA до лечения являлась достоверной ($r=0.53; p=0,006$), после лечения – отсутствовала ($r=0.13; p=0,6$), что объяснялось эффективным лечением пациентов и контролем за нормализацией уровня глюкозы и гликированного гемоглобина.

Повреждение эндотелия вызывает гиперпродукцию VEGFA как адаптационный механизм в условиях воспаления, гипоксии и гиперлипотеинемии при СД.

При анализе уровня PDGF-BB у больных с СДС до лечения составил 57,8 (46,98;67,55) нг/мл, достоверно превышая в 2 раза ($p<0,001$) в сравнении с группой контроля.

PDGF-BB стимулирует хемотаксис нейтрофилов, макрофагов, фибробластов и гладкомышечных клеток к месту раны. Гипоксия также является

важнейшим стимулом для продукции PDGF-BB. Эксперименты *in vivo* показали, что PDGF-BB играет важную роль в рекрутировании перицитов и гладкомышечных клеток и, таким образом, в повышении структурной и функциональной целостности сосудов.

После лечения больных с СДС содержание PDGF-BB достоверно увеличивалось до значений 72,83 (65,65;80,23) нг/мл, что было в 1,26 раза выше по сравнению с показателями фактора до лечения ($p<0,001$) и достоверно увеличивалось в 2,58 раза ($p<0,001$) по сравнению с контролем, свидетельствуя о постоянной коагуляции в ране с дегрануляцией тромбоцитов, гипоксии, стимулирующей синтез PDGF-BB для привлечения клеток, ответственных за процессы репарации.

Сравнительный анализ уровней TGF- β 1 у больных с СДС до лечения и в группе контроля показал достоверное увеличение фактора роста в 1,37 раза ($p<0,001$).

Уровень TGF- β 1 в крови больных с диабетическими язвами стопы не отличался высокими значениями, что, вероятно, было обусловлено патогенными эффектами глюкозотоксичности в тканях, несмотря на его важную роль в процессах воспаления, ангиогенеза и репарации соединительной ткани. По данным, TGF- β 1 способствует привлечению клеток, участвующих в реакциях воспаления и усиливает опосредованное макрофагами очищение тканей.

После лечения пациентов с СДС по сравнению с периодом до лечения содержание TGF- β 1 достоверно увеличилось в 1,4 раза ($p<0,001$) с медианными значениями 35495 (32174,5; 37915,5) пг/мл, что почти в 2 раза превышало уровень ростового фактора в сравнении с контролем ($p<0,001$). Данная реакция экспрессии TGF- β 1 свидетельствовала о его активном участии в пролиферативной фазе процесса заживления ран, связанной с делением и дифференцировкой клеток дифферона фибробластов, с последующим синтезом коллагена, эластина и компонентов внеклеточного матрикса.

Однако, выраженная способность TGF- β 1 стимулировать выработку коллагена может привести к гиперфиброзу, индуцируя и поддерживая активацию келоидных фибробластов.

Далее была исследована реакция факторов роста VEGFA, PDGF-BB, TGF- β 1 в ходе лечения различными методами физического воздействия на раневой процесс, что позволило оценить эффективность лечения с учетом патогенетических звеньев молекулярных механизмов процесса заживления язв. Несмотря на большое количество исследований роли ростовых факторов в заживлении при СД, не сформировано единых подходов в оценке комплексности и последовательности влияния этих веществ в патофизиологии раневого процесса при диабетических язвах.

Динамика уровней факторов роста VEGFA, PDGF-BB, TGF- β 1 в крови больных с СДС после лечения в зависимости от использованного метода лечения представлена в Таблице 6.2.

Таблица 6.2- Распределение показателей содержания факторов роста у пациентов с синдромом диабетической стопы в зависимости от метода лечения

Показатель	Группы больных с СДС				Н, р
	1-я n=35	2-я n=30	3-я n=30	4-я n=30	
VEGFA, мЕ/мл	170,5 (162,25;183,75))* $\neq$ 145-210	154,5 (137,25;164,75))* $\neq$ 130-170	221,5 (208,25;238,75))* $\neq$ 156-250	435 (379;487,25)* 155-506	H=92, 92; p<0,001
	U (1-2,3): Z ¹⁻² =4,4; p ¹⁻² <0,001; Z ¹⁻³ =-5,55; p ¹⁻³ <0,001; U (2-3): Z ²⁻³ =-6,27; p ²⁻³ <0,001				
PDGF-BB, нг/мл	73,0 (49,97;80,37))* $\neq$ 41,25-87,68	60,3 (52,3;67,1))* $\neq$ 41,4-74,32	53,15 (49,3;56,8))* $\neq$ 38,3-58,12	45,3 (42,04;52,4))* 37.85-58,63	H=35, 36; p<0,001
	U (1-2,3): Z ¹⁻² =2,1; p ¹⁻² =0,038; Z ¹⁻³ =3,1; p ¹⁻³ =0,002; U (2-3): Z ²⁻³ =3,36; p ²⁻³ =0,001				

Продолжение Таблицы 6.2					
TGF-1 β , пг/мл	38343 (37511;38649 ,5)* $\neq$ 23785-38628	34357 (30923,5;3634 3)* $\neq$ 23782-37347	32753 (29796;34642 ,5)* $\neq$ 23783-35725	27664 (28176;29931 ,5)* 23781-31854	H=66, 41; p<0,0 01
U (1-2,3): Z ¹⁻² =3,93; p ¹⁻² <0,001; Z ¹⁻³ =4,19; p ¹⁻³ <0,001; U (2-3): Z ²⁻³ =1,42; p ²⁻³ =0,16					

*Примечания: Формат отображения данных – Me (Q1;Q3), min-max; H – критерий Крускала-Уоллиса для множественных сравнений; U – критерий Манна-Уитни для оценки различий между группами; Z, p – Z-статистика и достоверность различий; U (1-2,3): Z¹⁻², Z¹⁻³, U (2-3): Z²⁻³ – критерий Манна-Уитни для сравнения уровней цитокинов у больных 1-й группы со 2-й и 3-й группой, а также между 2-й и 3-й группами, соответственно; – * и $\neq$ – обозначены достоверные различия при сравнении уровней цитокинов в 1-4-й группах с группой контроля и при сравнении с 4-й группой показателей цитокинов в 1-й – 3-й группах, соответственно.*

Распределение показателей VEGFA сыворотки пациентов с СДС на фоне лечения, установленное с помощью критерия Крускала-Уоллиса, имело достоверные различия (p<0,001) и демонстрировало наибольшие медианные значения фактора 435 (379;487,25) мЕ/мл в 4-й группе с традиционными подходами в лечении и достоверным превышением контрольного уровня в 5,45 раз (p<0,001). В 1-й, 2-й и 3-й группах применение методов физического воздействия в лечении ДЯС сопровождалось существенным снижением уровня VEGFA в 2,15, в 1,94 и в 2,8 раза (p<0,001) соответственно, в сравнении с группой контроля (Рисунок 6.1).

Сравнивая уровни VEGFA в 1-й, 2-й и 3-й группах с показателями 4-й группы, установлено его достоверное уменьшение в 2,55, 2,8 и 2 раза (p<0,001), соответственно. Данный факт свидетельствовал о тенденции восстановления продукции VEGFA до уровня, стимулирующего эффективный неоангиогенез и пролиферацию эндотелиальных клеток для увеличения диаметра сосудов и скорости кровотока, что приводило к сокращению сроков заживления язв. Применение лазеро- и озонотерапии отличалось значимым превышением содержания VEGFA в 1,3 и 1,43 раза (p<0,001) в сравнении с 1-й и 2-й группами соответственно, и сопровождалось замедленным течением заживления диабетических язв.

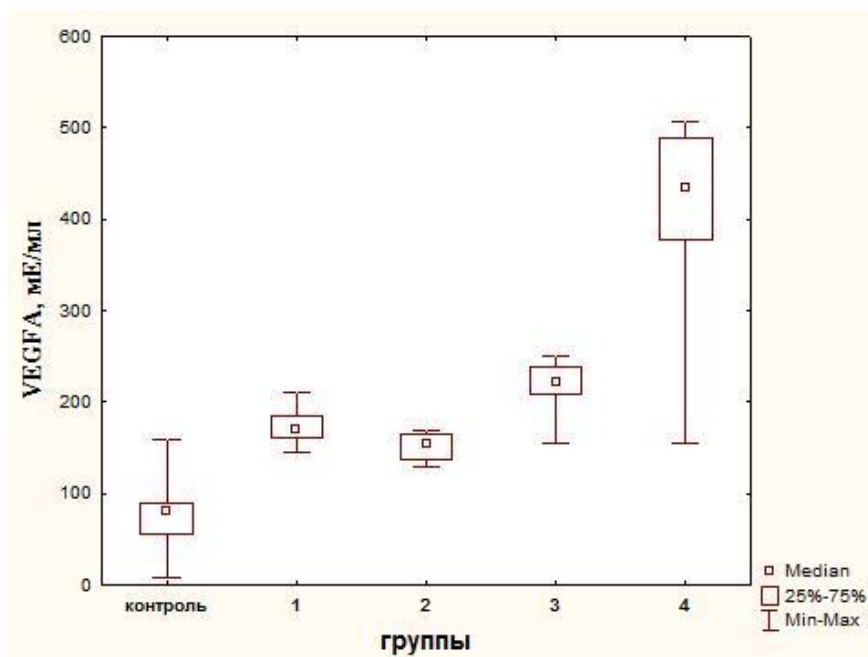


Рисунок 6.1- Содержание VEGFA (мЕ/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней факторов роста в 1-4-й группах с группой контроля; $\neq$ – достоверные различия при сравнении уровней факторов роста с 4-й группой в 1–3-й группах

Таким образом, уменьшению сроков заживления ран с сокращением размеров способствовало применение VAC-терапии и УЗ-кавитации за счет формирования грануляционной ткани, усиления локальной гемодинамики и пролиферации покровного эпителия кожи. Результатом лечения явилось достоверное снижение уровня VEGFA в 4 раза ($p < 0,001$) по сравнению с периодом до лечения, при этом сохранялось его 2-кратное значимое увеличение ($p < 0,001$) по сравнению с группой контроля, что являлось необходимой концентрацией для эффективного неоангиогенза и пролиферации при заживлении диабетических язв.

Постоянная высокая активность фактора роста VEGFA приводит к нарушению защитных свойств эндотелия, дистрофии и гибели эндотелиоцитов на фоне гипергликемии. Повреждения эндотелия вызывают развитие гипертрофии и гиперплазии гладкомышечных клеток, дезорганизацию клеточных элементов, стимуляцию синтеза компонентов внеклеточного матрикса в сосудистой стенке, вследствие чего нарушается соотношение «коллаген/эластин» с преобладанием

коллагена и утратой эластичности сосуда, утолщением срединной оболочки артерии. В конечном итоге описанные механизмы приводят к ремоделированию сосудов с необратимыми изменениями. Стимуляция неоангиогенеза фактором роста VEGFA в сосудах с клеточно-тканевой дезорганизацией способствует пролиферации эндотелия в *vasa vasorum*, расположенных в адвентициальной оболочке, что является адаптационным механизмом для обеспечения сосудистых оболочек кислородом.

Результаты определения фактора роста PDGF-BB в группах больных с СДС в зависимости от метода физического воздействия в комплексном лечении ДЯС приведены в Таблице 6.2.

Установлена связь содержания PDGF-BB с методами лечения ДЯС у больных с СДС с помощью критерия Краскела-Уоллиса ($H=35,36$; $p<0,001$). При этом сравнение содержания PDGF-BB между группами соответствовало общей тенденции – увеличению в 2,6 раза, 2,14 раза, 1,9 и 1,6 раза ($p<0,001$) в 1-4-й группах, соответственно, по сравнению с контролем (Рисунок 6.2). В 4-й группе больных с традиционным лечением ран повышение уровня PDGF-BB в 1,6 раза свидетельствовало о слабом стимулирующем влиянии данного фактора на процессы митогенеза и пролиферации недифференцированных форм дифферона фибробластов. При этом диабетические язвы при лечении традиционными методами имели клинические проявления хронического воспаления с единичными грануляциями, расположенными по краям раны, дно раны заполнено отежной тканью темно-красного цвета и отложениями фибрина. Максимальное значимое увеличение содержания PDGF-BB в 2,6 раза, 2,14 раза в группах с VAC-терапией и УЗ-кавитацией свидетельствовало о более активном развитии воспалительных реакций в лечении ДЯС с преобладающей экспрессией при действии VAC-терапии в сравнении с другими методами дополнительного физического воздействия.

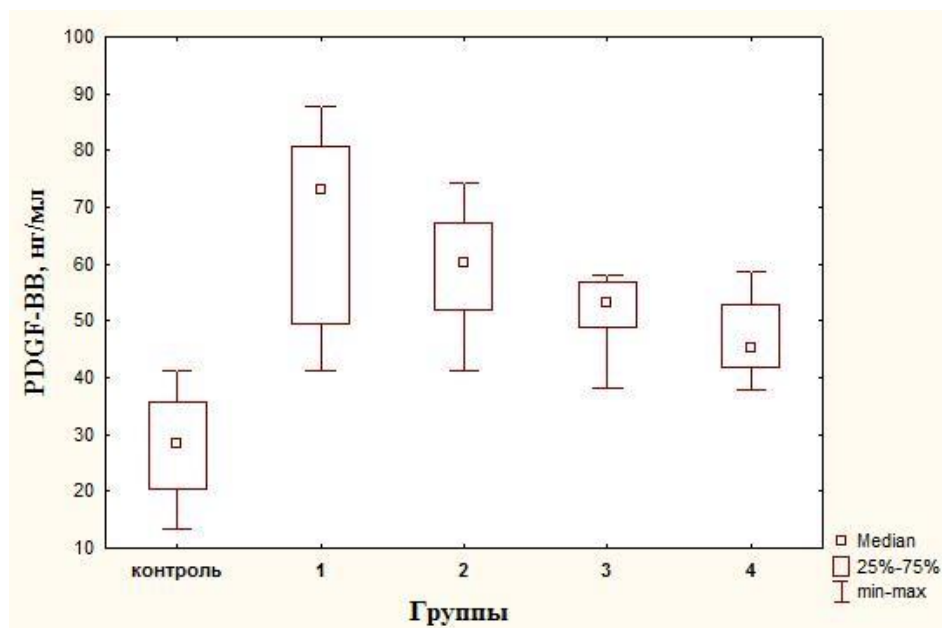


Рисунок 6.2- Содержание PDGF-BB (нг/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней PDGF-BB в 1-4-й группах с группой контроля; [‡] – достоверные различия при сравнении уровней PDGF-BB в 1–3-й группах с 4-й группой

Иницирующее влияние фактора роста PDGF-BB на формирование фибринового сгустка и продуктов фибриногена в качестве каркаса для рекрутирования и закрепления воспалительных клеток, фибробластов и других клеток мезенхимального происхождения, которые участвуют в формировании грануляционной ткани. Участие PDGF-BB в регулировании коагуляции и воспаления в лечении язвенных диабетических дефектов является пусковым механизмом для пролиферативной и ремоделирующей фаз репарации, указывает на протективное и необходимое влияние на контакты перицитов, N-кадгерина, белков адгезии между эндотелием.

Не менее важное влияние на репарацию ран при СДС с вовлечением в реакции воспаления, ангиогенеза, реэпителизации и регенерации имеет фактор роста TGF-1 β , обладающий мощным профиброгенным и иммунодепрессивным действием. Данные распределения содержания TGF-1 β в крови больных с СДС в 1-4 группах приведены в Таблице 6.2. Установлена связь содержания TGF-1 β с

методами лечения ДЯС у больных с СДС с помощью критерия Краскела-Уоллиса ($N=66,41$; $p<0,001$).

У больных с СДС уровень TGF-1 β был статистически достоверно увеличен в 1,5 раза, в 2 раза, в 1,9 раза и в 1,8 раза ($p<0,001$) в 1-4-й группах, соответственно, по сравнению с контролем, свидетельствуя об активном участии фактора роста в образовании грануляционной ткани, формировании межклеточного вещества с разрастанием коллагенового матрикса (Рисунок 6.3).

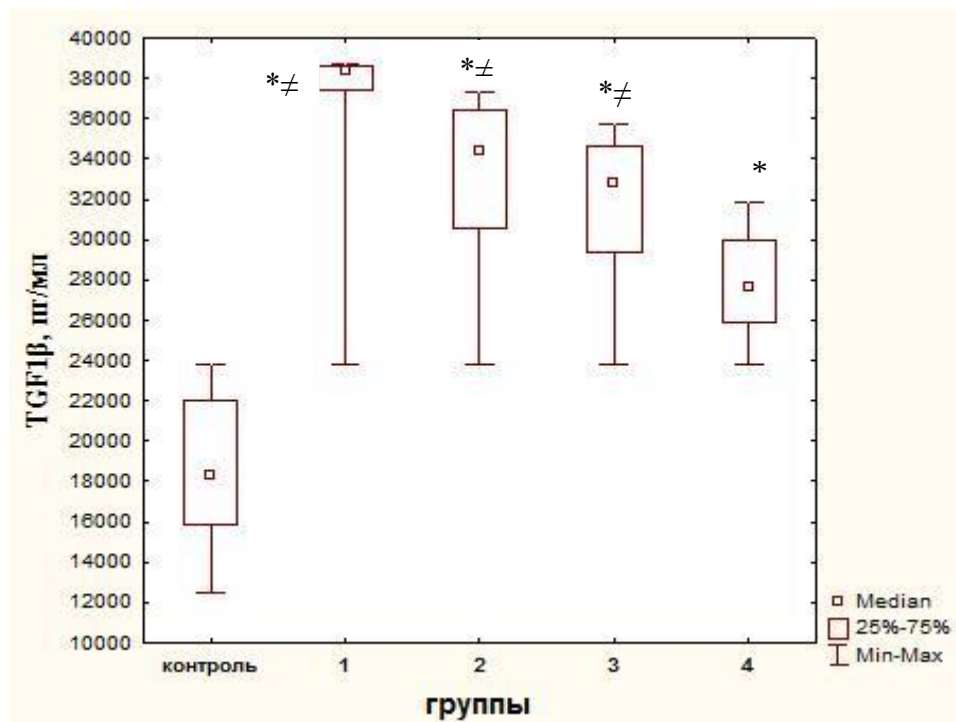


Рисунок 6.3- Содержание TGF-1 β (пг/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней TGF-1 β в 1-4-й группах с группой контроля; ≠ – достоверные различия при сравнении уровней TGF-1 β в 1–3-й группах с 4-й группой

Сравнение показателей TGF-1 β во 2-й, 3-й и 4-й группах с 1-й группой пациентов показало значимое превышение его уровня в 1,4–1,2 раза, что подтверждало эффективность применения дополнительных методов физического воздействия на восполнение раневого дефекта грануляционной тканью. Максимальное содержание TGF-1 β регистрировали во 1-й группе при применении VАС-терапии, что сопровождалось ускоренной пролиферацией фибробластов,

дифференцировкой их в миофибробласты, синтезом коллагена и компонентов основного вещества соединительной ткани.

Применение традиционного лечения ДЯС сопровождалось незначительным превышением содержания TGF-1 β и клинически проявлялось замедлением процесса заживления ран в виде отсутствия активно заполняющих раны грануляций и замедлению сокращения раны. Взаимодействие гликированного коллагена с компонентами внеклеточного матрикса и фибробластами или эндотелиальными клетками препятствует адгезии клеток, их пролиферации и сокращению раны. Использование VАС-терапии и УЗ-кавитации способствовало уменьшению тканевой гипоксии, бактериальной обсемененности, местного ацидоза и формированию грануляционной ткани и покровного эпителия.

Сравнение уровней TGF-1 β в группе больных с применением УЗ-кавитации с группой посредством лечения лазеро- и озонотерапией показало отсутствие различий ($p=0,16$), что объяснялось эффективными стимулирующими механизмами методов физического воздействия на пролиферативную активность грануляционной ткани при лечении диабетических язв.

6.2. Цитокины и репарация раневых дефектов при синдроме диабетической стопы

Характер местно-воспалительной реакция в ране при СДС имеет направленность к системному распространению под влиянием факторов неспецифической и иммунной защиты клеток, участвующих в прогрессировании раневого процесса (нейтрофилов, тромбоцитов, лимфоцитов и моноцитов-макрофагов). Активация данных клеток сопровождается продукцией медиаторов воспаления – цитокинов, участвующих в регуляции защиты с провоспалительным действием (IL-1 β , IL-6, TNF α), с противовоспалительным действием (INF γ , IL-10), участвующих в регуляции иммунных реакций за счет активации, пролиферации и дифференцировки клеток лимфоцитарного ростка (TGF-1 β и др.). В свете современных подходов к лечению СДС с иммуномодулирующим влиянием особенно важным является изучение состояния цитокиновой системы как при

формировании СДС в условиях дисбаланса метаболических нарушений, так и при различных вариантах хирургического лечения с активным использованием методов физического воздействия.

Динамика содержания цитокинов в группе контроля и у больных до и после лечения представлена в Таблице 6.3.

Таблица 6.3-Содержание цитокинов в исследуемых группах

Показатель	Контроль (1) n=30	До лечения (2) n=125	После лечения (3) n=125	U, p
INF γ , пг/мл 1,56-9,86	6,43 (5,11;7,41) 1,56-9,86	94,25 (44,52;104,61) 9,68-117,34	12,84 (11,9;14,42) 9,28-15,64	$Z^{1-2}=-$ 5,23; p^{1-} $^2<0,001$;
		(T) $Z^{2-3}=-3,74$; $p^{2-3}<0,001$		$Z^{1-3}=-$ 5,21; p^{1-} $^3<0,001$;
IL-1 β , пг/мл 2,4-5,78	4,3 (3,45;5,14) 2,4-5,78	73,74 (65,73;87,11) 58,75-97,65	16,74 (12,62;22,53) 5,48-25,67	$Z^{1-2}=-$ 5,27; p^{1-} $^2<0,001$;
		(T) $Z^{2-3}=3,82$; $p^{2-3}<0,001$		$Z^{1-3}=-$ 5,12; p^{1-} $^3<0,001$;
TNF α , пг/мл 4,24-9,24	7,32 (5,82;8,24) 4,24-9,24	103,64 (57,18;140,43) 25,54-150,12	10,12 (7,92;28) 5,45-32,74	$Z^{1-2}=-$ 5,27; p^{1-} $^2<0,001$;
		(T) $Z^{2-3}=3,82$; $p^{2-3}<0,001$		$Z^{1-3}=-$ 3,4; p^{1-} $^3<0,001$;

Продолжение Таблицы 6.3				
IL-6, пг/мл	6,52 (5,14;8,18) 3,72-9,35	43,75 (34,98;60,58) 21,34-94,74	13,63 (11,39;20,19) 8,85-23,86	$Z^{1-2}=-$ 5,27; p^{1-} $^2<0,001$;
		(T) $Z^{2-3}=4,13$; $p^{2-3}<0,001$		$Z^{1-3}=-$ 5,18; p^{1-} $^3<0,001$;
IL-10, пг/мл	10,32 (8,27;12,37) 6,33-14,45	16,84 (14,86;20,91) 11,32-22,84	48,93 (41,48;55,8) 32,54-61,76	$Z^{1-2}=-$ 4,74; p^{1-} $^2<0,001$;
		(T) $Z^{2-3}=4,13$; $p^{2-3}<0,001$		$Z^{1-3}=-$ 5,3; p^{1-} $^3<0,001$;

Примечания: формат отображения данных – Me (Q1;Q3), min-max; T – критерий Вилкоксона для оценки внутригрупповых различий; U – критерий Манна-Уитни для оценки различий между группами; Z, p – Z-статистика и достоверность различий. (U) Z^{1-2} , Z^{1-3} – критерий Манна-Уитни для сравнения уровней цитокинов у лиц контрольной группы (1) с группой до (2) и после лечения (3), соответственно; (T) Z^{2-3} – критерий Вилкоксона для сравнения уровней цитокинов в группах больных до (2) и после лечения (3), соответственно.

При анализе показателей цитокинов как про- так и противовоспалительного действия в крови больных с СДС в периоде до начала лечения установлено существенное статистически достоверное увеличение в сравнении с группой контроля: $INF\gamma$ – в 14,66 раз, IL-1 β – в 17,15 раз, TNF α – в 14,16 раз, IL-6 – в 6,7 раз, IL-10 – в 1,63 раза ($p<0,001$). Наиболее значительной на развитие язвенно-некротического процесса при СДС была отмечена реакция цитокинов $INF\gamma$, IL-1 β , TNF α и IL-6, что, вероятно, обусловлено включением защитной реакции на действие патогенных факторов раневого содержимого, активацией и привлечением в очаг воспаления нейтрофилов, тканевых базофилов, эозинофилов и моноцитов-макрофагов, стимуляцией синтеза острофазовых белков и т.д. Содержание цитокина IL-10 регуляторного и противовоспалительного действия демонстрировало невыраженное, хотя и достоверное увеличение, что было

связано с фазой гидратации раневого процесса с присутствием в ране некротизированных участков, воспалительного экссудата, отека с протеолитическими ферментами и нарушениями гемо- и лимфомикроциркуляции. Оценивая динамику содержания цитокинов после лечения в группе больных в целом при сравнении с результатами, полученными до лечения с помощью критерия Вилкоксона, обнаружено достоверное снижение уровня $INF\gamma$ в 7,34 раза, $IL-1\beta$ в 4,4 раза, $TNF\alpha$ в 10,24 раза и $IL-6$ в 3,2 раза ($p<0,001$, для всех наблюдений). Завершение фазы гидратации раневого процесса с участием макрофагов и очищением раны сопровождалось активацией следующего этапа заживления раны с пролиферацией фибробластов, ответственных за синтез коллагеновых волокон и компонентов основного вещества соединительной ткани. Достоверное увеличение продукции цитокина $IL-10$ после лечения в 2,9 раза ($p<0,001$) указывало на усиление регуляторного влияния, направленное супрессорное действие на подавление иммунной реакции для обеспечения ее контроля, что являлось отражением активации процессов пролиферации и заживления ран. Характеристика распределения цитокинов в 1-й, 2-й, 3-й и 4-й группах после применения различных методов лечения представлена в Таблице 6.4.

Таблица 6.4- Распределение показателей цитокинов в исследуемых группах в зависимости от метода лечения

Показатель	Группы				Н, р
	1-я n=35	2-я n=30	3-я n=30	4-я n=30	
$INF\gamma$, пг/мл	11,47 (10,5;11,9)* [≠] 9,36-12,84	11,95 (11,2;12,6)* [≠] 9,3-13,86	13,24 (12,7;13,7)* [≠] 9,32-14,64	14,56 (13,6;15,4)* 9,53-15,64	H=68,9; $p<0,001$
	U (1-2,3): $Z^{1-2}=-1,53$; $p^{1-2}=0,13$; $Z^{1-3}=-4,01$; $p^{1-3}=0,008$; U (2-3): $Z^{2-3}=-3,14$; $p^{2-3}=0,002$				

Продолжение Таблицы 6.4					
IL-1 β , пг/мл	14,95 (12,14;17,9)* $\neq$ 5,56-19,86	16,74 (14,6;17,5)* $\neq$ 5,7-18,93	18,74 (16,6;19,8)* $\neq$ 5,76-22,75	23,6 (21,2;24,95) * 19,38- 25,67	H=72,2; p<0,001
	U (1-2,3): Z ¹⁻² =-0,6; p ¹⁻² =0,57; Z ¹⁻³ =-2,6; p ¹⁻³ =0,008; U (2-3): Z ²⁻³ =-2,58; p ²⁻³ =0,01				
TNF α , пг/мл	11,75 (9,47;14,7)* $\neq$ 5,45-17,52	13,53 (11,2;16,4)* $\neq$ 5,43-18,32	16,7 (14,2;19,54)* $\neq$ 6,58-21,72	28,52 (26,9;30,34) * 9,2-32,74	H=67,17 ; p<0,001
	U (1-2,3): Z ¹⁻² =-1,34; p ¹⁻² =0,18; Z ¹⁻³ =-2,99; p ¹⁻³ =0,003; U (2-3): Z ²⁻³ =- 2,26; p ²⁻³ =0,024				
IL-6, пг/мл	11,46 (10,4;12,94)* $\neq$ 8,88-13,83	13,8 (12,5;14,7)* $\neq$ 9,18-15,33	17,53 (15,9;18,1)* $\neq$ 9,17-19,28	20,58 (17,94;22,9) * 8,74-23,86	H=62,44 ; p<0,001
	U (1-2,3): Z ¹⁻² =-2,83; p ¹⁻² =0,005; Z ¹⁻³ =-3,82; p ¹⁻³ <0,001; U (2-3): Z ²⁻³ =- 3,72; p ²⁻³ <0,001				
IL-10, пг/мл	56,55 (52,8;58,94)* $\neq$ 48,93-61,76	49,73 (47,1;51,6)* $\neq$ 42,24-54,86	39,5 (33,6;43,5)* $\neq$ 14,4-48,93	34,54 (33,7;36,1)* 32,54-37,86	H=83,28 ; p<0,001
	U (1-2,3): Z ¹⁻² =4,15; p ¹⁻² <0,001; Z ¹⁻³ =5,26; p ¹⁻³ <0,001; U (2-3): Z ²⁻³ =4,67; p ²⁻³ <0,001				

Примечания: формат отображения данных – Me (Q1;Q3), min-max; H – критерий Крускала-Уоллиса для множественных сравнений; U – критерий Манна-Уитни для оценки различий между группами; Z, p – Z-статистика и достоверность различий; U (1-2,3): Z¹⁻², Z¹⁻³, U (2-3): Z²⁻³ – критерий Манна-Уитни для сравнения уровней цитокинов у больных 1-й группы со 2-й и 3-й группой, а также между 2-й и 3-й группами, соответственно; * и $\neq$ – обозначены достоверные различия при сравнении уровней цитокинов в 1-4-й группах с группой контроля и при сравнении с 4-й группой (сравнения) показателей цитокинов во 1-й – 3-й группах, соответственно.

Распределение показателей концентрации INF γ в исследуемых группах являлось статистически достоверным и было установлено с помощью критерия Краскела-Уоллиса (H=68,9; p<0,001). Различия в содержании INF γ между 4-й группой и 1-й, 2-й и 3-й группами были значимыми, демонстрируя снижение цитокина в 1,2-1,37 раза (p<0,001).

Сравнение уровней INF γ в 1-4-й группах с контрольным уровнем показало достоверное максимальное увеличение цитокина в 2,26 раза в 4-й группе с традиционным лечением ДЯС (p<0,001) (Рисунок 6.4). В 1-3-й группах больных

содержание $\text{INF}\gamma$ статистически значимо превышало контрольный уровень в 1,78-2,06 раза ($p < 0,001$), что указывало на сохраняющуюся увеличенную фагоцитарную активность макрофагов в группе с традиционным лечением и, следовательно, замедленное течение фазы гидратации и раневого процесса в целом. Применение VAC-терапии и УЗ-кавитации сопровождалось практически равным синтезом $\text{INF}\gamma$, что подтверждалось отсутствием достоверного различия ($p = 0,13$), свидетельствуя об эффективном лечении ран данными методами с участием реакций клеточного иммунитета в направлении активации фагоцитоза макрофагами и процессов пролиферации фибробластов.

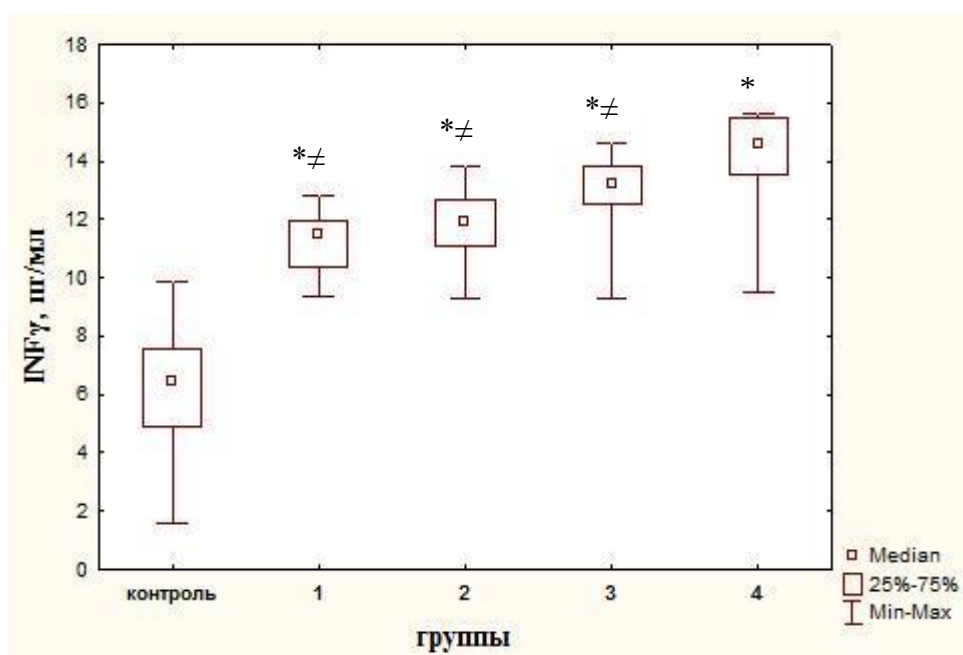


Рисунок 6.4- Содержание $\text{INF}\gamma$ (пг/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней $\text{INF}\gamma$ в 1-4-й группах с группой контроля; ≠ – достоверные различия при сравнении уровней $\text{INF}\gamma$ в 1–3-й группах с 4-й группой

Аналогичная ситуация была установлена и с динамикой показателей цитокинов провоспалительного действия $\text{IL-1}\beta$ (Рисунок 6.5). Распределение уровней $\text{IL-1}\beta$ в 1-4-й группах являлось статистически достоверным и было установлено с помощью критерия Краскела-Уоллиса ($H=72,2$; $p < 0,001$). На фоне лечения содержание $\text{IL-1}\beta$ увеличивалось в 3,5-5,5 раз в сравнении с контролем с максимумом в 4-й группе ($p < 0,001$), указывая на пролонгированную выраженную

реакцию неспецифической защиты с участием полиморфно-ядерных лейкоцитов при традиционном лечении диабетических язв. В 1-й и 2-й группах превышение IL-1 β в 3,5 и 3,9 раз ($p < 0,001$) по сравнению с контролем свидетельствовало о купировании воспалительных реакций в ранах, переходом к стадии дегидратации с преобладанием профиброгенного влияния на пролиферацию эндотелия и фибробластов при активном участии макрофагов. Эффективность применения VАС-терапии и УЗ-кавитации подтверждалась отсутствием достоверного различия в содержании IL-1 β между группами ($p = 0,57$). Применение лазеро- и озонотерапии сопровождалось увеличением IL-1 β в 1,25 раза ($p = 0,008$) по сравнению с 1-й группой, что отражало медленное течение заживления ран с участием воспалительных клеток в процессах экссудации и эмиграции.

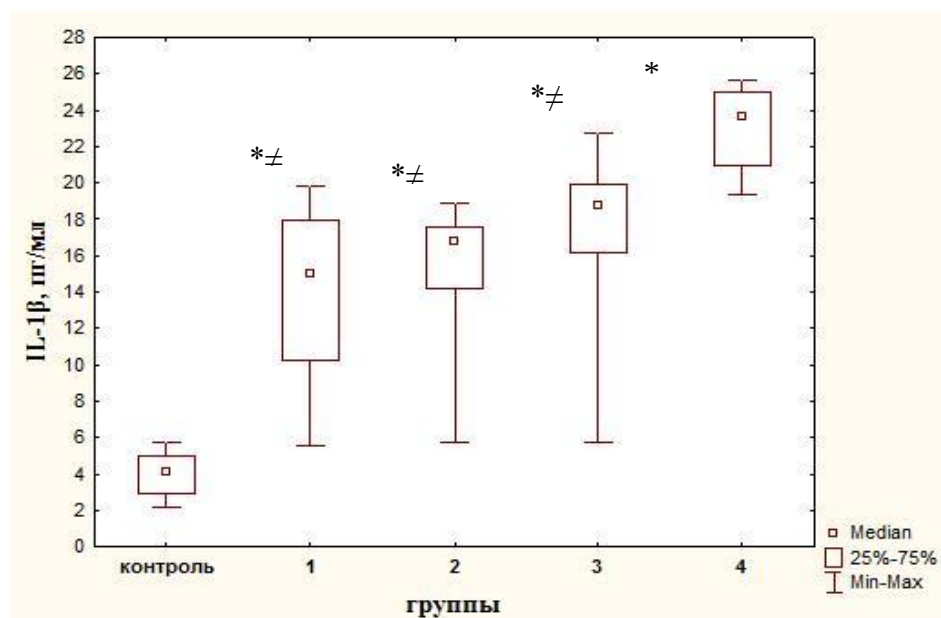


Рисунок 6.5- Содержание IL-1 β (пг/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней IL-1 β в 1-4-й группах с группой контроля; $\neq$ – достоверные различия при сравнении уровней IL-1 β в 1–3-й группах с 4-й группой

Распределение TNF α в группах больных после лечения являлось статистически достоверным ($N=67,17$; $p < 0,001$). Содержание TNF α в 1-4-й группах значимо превышало контрольный уровень в 1,6-3,9 раз (Рисунок 6.6).

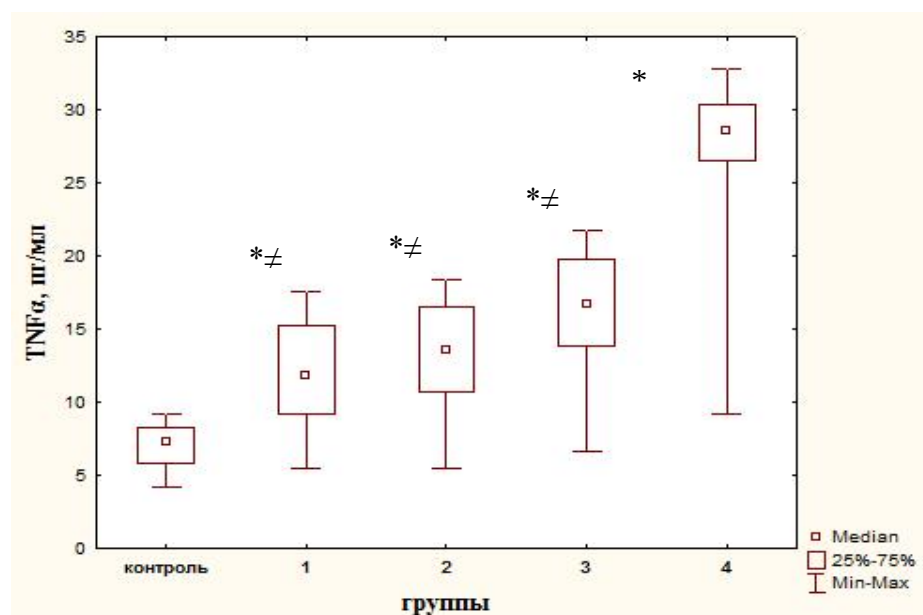


Рисунок 6.6 - Содержание TNF α (пг/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней TNF α в 1-4-й группах с группой контроля; # – достоверные различия при сравнении уровней TNF α в 1–3-й группах с 4-й группой

В 4-й группе наблюдали максимальный подъем TNF α по сравнению с контролем (в 3,9 раза ($p < 0,001$)), что указывало на активное течение альтеративно-экссудативной фазы воспаления в диабетических ранах характерное для стадии гидратации раневого процесса. Учитывая то, что TNF α вырабатывается нейтрофилами, эндотелиоцитами, макрофагами, Т- и В-лимфоцитами и является интегративным цитокином воспалительного и иммуномодулирующего действия, по его динамике можно судить о регуляторной роли в неспецифической и адаптивной защите. Повышение концентрации TNF α свидетельствовало об усилении цитотоксического эффекта против деструктивных и инфицированных участков раны, активации нейтрофилов, макрофагов, синтеза провоспалительных цитокинов, белков острой фазы воспаления. Применение VАС-терапии и УЗ-кавитации в 1-й и 2-й группах сопровождалось небольшим, но достоверным увеличением TNF α в 1,6-1,85 раза с купированием воспалительного альтеративно-экссудативного компонента, демонстрируя эффективность лечения с переходом раневого процесса к стадии дегидратации и пролиферации. Применение лазеро- и озонотерапии в 3-й группе приводило к значимому

повышению содержания TNF α в 2,3 раза по сравнению с контролем, а также значимому увеличению по сравнению с 1-й группой ($p=0,003$) и 2-й группой ($p=0,024$), что указывало на более выраженные провоспалительные реакции и замедление процесса очищения ран.

Установлена связь между показателями концентрации маркера провоспалительных реакций IL-6 и методами лечения ДЯС с помощью критерия Краскела-Уоллиса со статистической достоверностью ($H=62,44$; $p<0,001$). Содержание IL-6 в 1-4-й группах значимо превышало контрольный уровень в 1,75-3,16 раз, соответственно (Рисунок 6.7). Максимальное увеличение уровня IL-6 до 20,58 (17,94;22,9) пг/мл наблюдалось в 4-й группе с традиционным лечением.

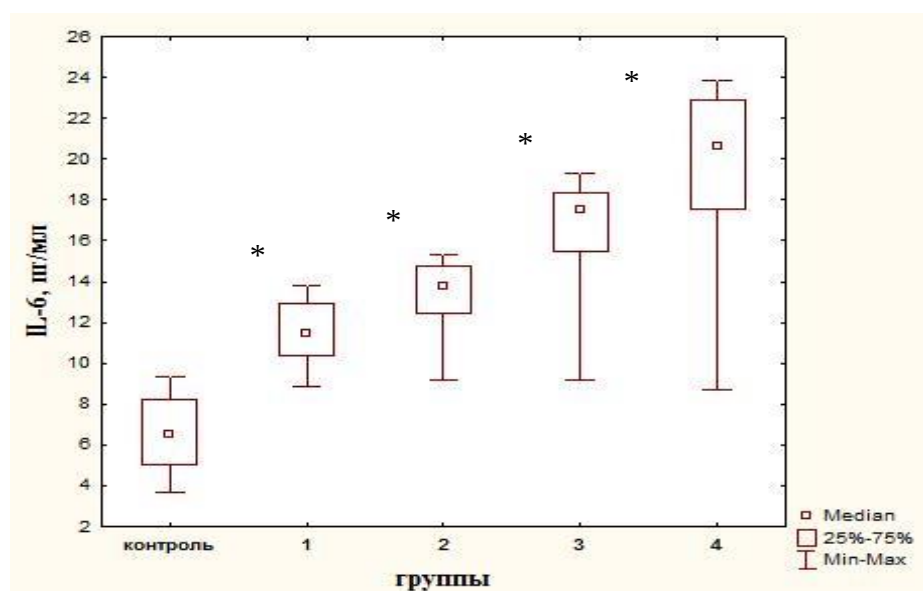


Рисунок 6.7- Содержание IL-6 (пг/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней IL-6 в 1-4-й группах с группой контроля; + – достоверные различия при сравнении уровней IL-6 в 1–3-й группах с 4-й группой

Сравнение уровней IL-6 в 1-2-й группах с показателями в 4-й группе показало достоверное снижение цитокина в 1,8 раза ($p<0,001$) и 1,5 раза ($p<0,001$), свидетельствуя об уменьшении активности стадии альтеративно-экссудативного воспаления, эндотелиального повреждения и эмиграции лейкоцитов. При этом в 1-й группе с VAC-терапией стабилизация воспалительного процесса проходила

активнее, чем при УЗ-кавитации ($p=0,005$). Иммунореактивность, связанная с продукцией IL-6 в 3-й группе с лазеро- и озонотерапией выражалась в сохранении достаточно высокого уровня IL-6, превышающего значения в 1-й и 2-й группах, указывая на незначительное влияние на провоспалительные реакции при использовании данного метода физического воздействия.

Небольшое, но достоверное снижение уровня IL-6 в 1,2 раза в 3-й группе по сравнению с 4-й группой ($p<0,001$) объяснялось позитивным воздействием лазеро- и озонотерапии на течение воспалительного процесса в ранах, но с менее выраженным эффектом, чем при использовании VАС-терапии и УЗ-кавитации. Применение методов физического воздействия для лечения ДЯС вызывало уменьшение отека и инфильтрации интерстициальной ткани полиморфно-ядерными лейкоцитами, очищение ран от фибринозно-гнойного детрита, увеличение сосудистой проницаемости. Однако, наличие повышенного синтеза IL-6, вероятно, оказывало регуляторное влияние на активацию и пролиферацию макрофагов, которые инициировали привлечение фибробластов для формирования грануляционной ткани с внеклеточным матриксом и неоваскулогенезом, ускоряя заживление ран.

Распределение показателей IL-10 в группах больных после лечения, установленное с помощью критерия Краскела-Уоллиса являлось статистически достоверным ($H=83,28$; $p<0,001$). Содержание IL-10 в 1-4-й группах значимо превышало контрольный уровень в 1-й группе в 5,48 раз, во 2-й – в 4,1 раза, в 3-й – в 3,83 раза, в 4-й – в 3,35 раза (Рисунок 6.8).

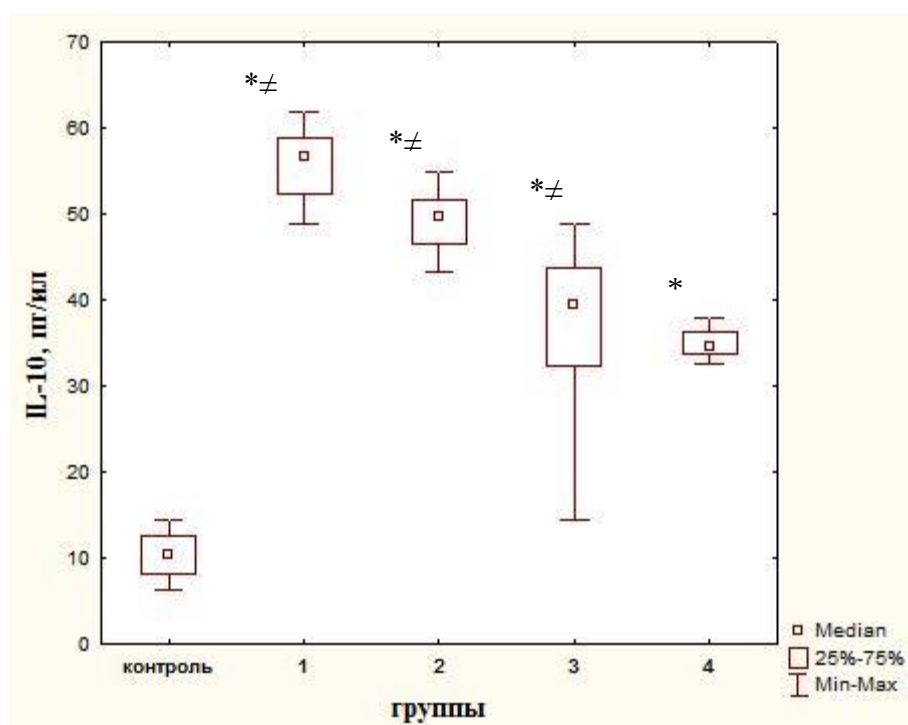


Рисунок 6.8- Содержание IL-10 (пг/мл) в контроле и в группах пациентов после лечения; * – достоверные различия при сравнении уровней IL-10 в 1-4-й группах с группой контроля; ≠ – достоверные различия при сравнении уровней IL-10 в 1–3-й группах с 4-й группой

Увеличение содержания IL-10 в 4-й группе отличалось менее выраженными значениями по сравнению с группами с применением методов физического воздействия в лечении диабетических ран. Так, в 1-й и 2-й группах уровень IL-10 достоверно превышал показатели 4-й группы в 1,64 и 1,44 раза ($p < 0,001$), соответственно. Межгрупповые сравнения величин IL-10, проведенные с помощью критерия Манна-Уитни, показали существенные отличия уровня цитокина в 1-й группе ($p < 0,001$), что отражало наиболее активное участие протективных механизмов в патогенезе воспаления в раневых дефектах при назначении VАС-терапии. Применение УЗ-кавитации, лазеро- и озонотерапии также сопровождалось увеличением IL-10, но имело достоверно меньшие значения по сравнению с 1-й группой ($p < 0,001$).

IL-10 – противовоспалительный цитокин с разнообразными фенотипическими эффектами, продуцируется В- и Т-лимфоцитами, тучными

клетками, нейтрофилами, базофилами, эозинофилами, макрофагами, дендритными клетками. Регуляторное влияние IL-10 направлено на разрешение воспаления за счет ингибирования презентации антигена дендритными клетками и ингибирования инфильтрации макрофагов в раневом дефекте с ослаблением экспрессии провоспалительных цитокинов.

IL-10 действует как посттранскрипционный регуляторный фактор, способствуя специфической дестабилизации мРНК провоспалительных цитокинов. Кроме того, считается, что IL-10 ингибирует пути передачи сигнала апоптоза, такие как путь p38 MAPK, посредством сигнала преобразователя и активатора транскрипции 3 (STAT3)- зависимая передача сигналов, тем самым ограничивая повреждение и гибель клеток.

Макрофаги являются основными мишенями для эффектов IL-10, способствуют заживлению ран, купируя воспаление и стимулируя новое формирование внеклеточного матрикса. Активация IL-10 макрофагов ведет к рекрутированию и активации фибробластов, опосредуемые TGF-1 β , модулирует активность и баланс матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов, тем самым контролируя степень формирования внеклеточного матрикса в стадии ремоделирования процесса заживления ран.

Таким образом, исследование регуляторной роли факторов роста, а также про- и противовоспалительных цитокинов в процессе лечения ДЯС позволило установить патогенетические механизмы стадийности хронического воспаления на фоне длительного дисбаланса метаболических нарушений и нарушений кровообращения при СДС.

В ходе лечения больных с СДС с применением методов физического воздействия на заживление ДЯС было установлено наиболее эффективное влияние для методов VАС-терапии и УЗ-кавитации по сравнению с лазеро- и озонотерапией, а также традиционными методами лечения. Ключевые различия в процессе репарации ран на фоне лечения заключались в значительном сокращении сроков лечения в 1-й и 2-й группах по сравнению с 3-й и 4-й группами, снижением уровня VEGFA в 1-2-й группах в 4-4,5 раза ($p < 0,001$), 3-й

группе в 3,11 раза ($p<0,001$), в 4-й группе в 1,55 раза ($p<0,001$); превышением уровня PDGF-BB в 1-й группе в 1,3 раза ($p<0,001$); увеличением содержания TGF- 1β в 1,5 раза в 1-й группе ($p<0,001$), во 2-й – в 1,36 раза ($p<0,001$) и в 3-й – в 1,3 раза ($p<0,001$), что указывало на стимулирующее влияние VAC-терапии и УЗ-кавитации на процессы эффективного ангиогенеза, митогенеза и фиброгенеза в пролиферации раневых дефектов.

Исследование про- и противовоспалительных цитокинов на фоне хронических язв у больных с СДС показало достоверное увеличение уровней INF γ в 14,66 раз, IL- 1β в 17,15 раз, TNF α в 14,16 раз, IL-6 в 6,7 раз, IL-10 в 1,63 раза ($p<0,001$). После комплексного лечения установлены максимальные различия при VAC-терапии с достоверным снижением INF γ в 8,2 раза, IL- 1β – в 4,93 раза, TNF α – в 8,82 раза, IL-6 – в 3,82 раза ($p<0,001$), и повышение IL-10 в 3,62 раза ($p<0,001$). Применение УЗ-кавитации, лазеро-, озонотерапии и традиционных методов лечения сопровождалось не столь выраженными реакциями цитокиновой системы. Установлено, что наибольшую эффективность лечения ДЯС отмечали при назначении VAC-терапии.

6.3. Корреляционный анализ зависимости факторов роста VEGFA, PDGF-BB и TGF- 1β от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС

Для выяснения связи факторов роста VEGFA, PDGF-BB и TGF- 1β с клинико-диагностическими показателями больных с СДС, такими как длительность заболевания СД, тяжесть состояния при поступлении, степень выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровень ЛПНП, Hb_{A1c}, INF γ , IL- 1β , TNF α , IL-6 и IL-10 до и после лечения, был проведен корреляционный анализ Спирмена (Таблицы 6.5-6.7).

Выполненный корреляционный анализ зависимости VEGFA от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС показал наличие сопряженности с длительностью заболевания СД, тяжестью состояния при поступлении, степенью выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровнем ЛПНП, Hb_{A1c}, INF γ , IL- 1β , TNF α , IL-6 и IL-10.

Таблица 6.5-Зависимость VEGFA от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с синдромом диабетической стопы

Категории	До лечения	После лечения
Длительность заболевания СД	R=0,55; p=0,005	-
Степень поражения по Вагнеру	R=0,69 ;p=0,001	R=0,83; p<0,001
ЛПИ	R=-0,45; p=0,031	R=0,23; p=0,52
Тяжесть состояния	R=0,61; p=0,004	-
ЛПНП	R =0,91; p<0,001	R=0,804;p<0,001.
Hb _{A1c}	R=0,53; p=0,006	R=0,13; p=0,6
INF γ	R=0,48; p=0,008	R=0,42; p=0,026
IL-1 β	R=0,54; p=0,002	R=0,29; p=0,12
TNF α	R=0,51; p=0,004	R=0,31; p=0,10
IL-6	R=0,86; p<0,001	R=0.64; p=0,002
IL-10	R=-0,29; p=0,11	R=-0,49; p=0,005

Примечания: R – ранговый коэффициент корреляции Спирмена, p – достоверность различий

Так, длительность заболевания СД составила 10 (10;15) лет, min – до 1 года, max – 52 года и имела прямую корреляционную связь с концентрацией VEGFA: чем больше была длительность СД, тем выше уровень VEGFA (R=0,55; p=0,005), что согласовывалось с данным. По тяжести состояния при поступлении преобладали лица в относительно удовлетворительном состоянии с медианой 1 (1;2) балл, корреляционная связь (R=0,61; p=0,004) подчеркивала зависимость общего состояния больных с проявлениями метаболических нарушений, местного ацидоза, гипоксии с концентрацией VEGF. Уровень Hb_{A1c} при поступлении составил 8,8 (7,8-9,5) ммоль/л, после лечения – 8,3 (7,67-8,67) ммоль/л, корреляционная связь с VEGF до лечения являлась достоверной (R=0.53; p=0,006), но после лечения отсутствовала (R=0.13; p=0,6), что объяснялось более длительной по срокам наблюдения нормализацией гликированного гемоглобина.

Степень выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру составила при поступлении 2 (1;3) балла, после лечения при выписке – 1 (0-2) балл. Корреляционным анализом показана высокая достоверная связь с уровнем VEGFA как до ($R=0,69$; $p=0,001$), так и после лечения ($R=0,83$; $p<0,001$), что указывало на прямую зависимость структурно-функциональных нарушений мягких тканей и концентрации VEGFA.

Корреляционный анализ выявил обратную связь средней силы показателя ЛПИ с VEGFA ($R=-0.45$; $p=0,031$): чем ниже были значения ЛПИ, тем выше уровень VEGFA. До лечения ЛПИ составил 0,8 (0,7;1,0), после лечения отмечали его небольшое увеличение до 0,9 (0,8;1,1), однако, корреляционная связь с VEGFA отсутствовала ($R=0.23$; $p=0,52$), что свидетельствовало о выраженной степени ремоделирования стенки артериальных сосудов нижних конечностей.

Уровень ЛПНП до лечения имел значительное превышение с медианой 5,5 (4,6-7,3) ммоль/л, после лечения регистрировали некоторое снижение ЛПНП до 5,1 (4,2-7,1) ммоль/л. Данные значения имели высокую прямую корреляционную связь с VEGFA в начале лечения ($R=0,91$; $p<0,001$) и при выписке ($R=0,704$; $p<0,001$), что было связано с прогрессированием осложнений СД в виде нарушения липидного обмена с увеличением синтеза ЛПНП, отложением атеросклеротических бляшек на стенках сосудов. Вероятно, повреждение эндотелия вызывало гиперпродукцию VEGFA и являлось адаптационным механизмом, направленным на стимуляцию неоангиогенеза в условиях воспаления и облитерации сосудистой стенки.

У больных с СДС до лечения корреляционным анализом установлены достоверные связи между уровнем VEGFA и содержанием провоспалительных цитокинов $INF\gamma$ ($R=0,48$; $p=0,008$), $IL-1\beta$ ($R=0,54$; $p=0,002$), $TNF\alpha$ ($R=0,51$; $p=0,004$) и $IL-6$ ($R=0,86$; $p<0,001$), динамика исследованных цитокинов и VEGFA имела однонаправленный характер и отражала их участие в реализации реакций воспаления и ангиогенеза. С уровнем противовоспалительного цитокина $IL-10$ достоверной связи не обнаружено ($R=-0,29$; $p=0,11$), что связано, на наш взгляд, с

небольшой концентрацией и минимальными различиями IL-10 у больных с диабетическими язвами до лечения.

После лечения анализ связи VEGFA с уровнями цитокинов показал, что снижение концентрации VEGFA ассоциируется с $\text{INF}\gamma$ ($R=0,42$; $p=0,026$) и IL-6 ($R=0,64$; $p=0,002$) и IL-10 ($R=-0,49$; $p=0,005$). А на показатели IL-1 β ($R=0,29$; $p=0,12$) и $\text{TNF}\alpha$ ($R=0,31$; $p=0,10$) динамика VEGFA не оказывала значимого влияния, что было обусловлено снижением реакции провоспалительных цитокинов после лечения.

Корреляционный анализ зависимости PDGF-BB от выраженности клинικο-диагностических показателей у больных с СДС показал наличие связи с длительностью заболевания СД, тяжестью состояния при поступлении, степенью выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровнем ЛПНП, Hb_{A1c} , $\text{INF}\gamma$, IL-1 β , $\text{TNF}\alpha$, IL-6 и IL-10 (Таблица 6.6).

Таблица 6.6- Зависимость PDGF-BB от выраженности клинικο-диагностических показателей у больных с синдромом диабетической стопы

Категории	До лечения	После лечения
Длительность заболевания СД	$R=-0,75$; $p<0,001$	-
Степень поражения по Вагнеру	$R=-0,65$; $p<0,001$	$R=-0,45$; $p=0,013$
ЛПИ	$R=0,51$; $p=0,005$	$R=0,69$; $p<0,001$
Тяжесть состояния	$R=-0,86$; $p<0,001$	-
ЛПНП	$R=0,76$; $p<0,001$	$R=-0,51$; $p=0,004$
Hb_{A1c}	$R=-0,5$; $p=0,005$	$R=-0,46$; $p=0,011$
$\text{INF}\gamma$	$R=0,45$; $p=0,012$	$R=0,2$; $p=0,29$
IL-1 β	$R=0,51$; $p=0,004$	$R=-0,42$; $p=0,021$
$\text{TNF}\alpha$	$R=0,52$; $p=0,003$	$R=-0,54$; $p=0,002$
IL-6	$R=0,47$; $p=0,008$	$R=-0,48$; $p=0,009$
IL-10	$R=-0,46$; $p=0,011$	$R=0,59$; $p=0,001$

Примечания: R – ранговый коэффициент корреляции Спирмена, p – достоверность различий

Зависимость уровня PDGF-BB от продолжительности заболевания СД имела сильную обратную связь ($R=-0,75$; $p<0,001$), т.е., чем меньше была концентрация PDGF-BB, тем более длительное течение СД. Характер связи между уровнем PDGF-BB и тяжестью состояния больных также имела достоверную отрицательную связь ($R=-0,86$; $p<0,001$), демонстрируя угнетение синтеза тромбоцитарного фактора роста и его слабовыраженное влияние на процессы заживления диабетических ран. Об этом свидетельствовало увеличение степени выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру до лечения при слабой экспрессии фактора PDGF-BB с обратной зависимостью между ними ($R=-0,65$; $p<0,001$). После лечения больных с СДС корреляционным анализом установлено наличие обратной связи между уровнем PDGF-BB и степенью выраженности поражения мягких тканей стопы по Вагнеру ($R=-0,45$; $p=0,013$). Увеличение концентрации PDGF-BB значимо влияло на уменьшение раневых дефектов с корреляционной связью меньшей силы.

Корреляционным анализом установлена связь средней силы показателя ЛПИ с PDGF-BB до лечения ($R=0,51$; $p=0,005$), после лечения связь имела большую степень силы ($R=0,69$; $p<0,001$): чем выше был уровень PDGF-BB, тем значительнее возрастал ЛПИ. Протективное влияние методов физического воздействия при СДС на продукцию тромбоцитарного фактора выражалось в противовоспалительном и митогенном эффектах при заживлении ран, уменьшении атеро- и тромбогенного влияния на эндотелий.

Достоверная корреляционная связь установлена между уровнями PDGF-BB и ЛПНП как до лечения ($R=0,76$; $p<0,001$), так и после лечения, но с обратной зависимостью ($R=-0,54$; $p=0,004$). Данный факт являлся отражением взаимосвязи увеличенной продукции PDGF-BB со снижением содержания ЛПНП на фоне лечения.

Сопряженность PDGF-BB и Hb_{A1c} у больных с СДС до лечения имела достоверную отрицательную связь ($R=-0,5$; $p=0,005$). Высокий уровень Hb_{A1c} , несмотря на прослеживающуюся тенденцию снижения на фоне лечения, значимо коррелировал с обратной зависимостью с PDGF-BB ($R=-0,46$; $p=0,011$),

показывая, что снижение и стабилизация Hb_{A1c} до нормального уровня наблюдается у пациентов с гиперпродукцией тромбоцитарного фактора.

Корреляционным анализом, определяющим зависимость PDGF-BB от концентрации провоспалительных цитокинов до лечения, продемонстрировано наличие связи средней силы: $INF\gamma$ ($R=0,45$; $p=0,012$), $IL-1\beta$ ($R=0,51$; $p=0,004$), $TNF\alpha$ ($R=0,52$; $p=0,003$), $IL-6$ ($R=0,47$; $p=0,008$). Данный характер сопряженности, вероятно, был обусловлен увеличением содержания провоспалительных цитокинов у пациентов с превышением PDGF-BB.

После лечения корреляционная связь между PDGF-BB и противовоспалительными цитокинами имела характер обратной средней силы, что объяснялось возрастанием продукции PDGF-BB и торможением альтеративно-экссудативной реакции со снижением уровня маркерных цитокинов воспаления: $IL-1\beta$ ($R=-0,42$; $p=0,021$), $TNF\alpha$ ($R=-0,54$; $p=0,002$), $IL-6$ ($R=-0,48$; $p=0,009$). Связь между PDGF-BB и $INF\gamma$ отсутствовала ($R=-0,2$; $p=0,29$).

Для корреляционной зависимости PDGF-BB и противовоспалительного цитокина $IL-10$ до лечения характерным являлось наличие отрицательной средней связи ($R=-0,46$; $p=0,011$), что было обусловлено увеличенным синтезом PDGF-BB при низком содержании $IL-10$. После лечения характер корреляционной зависимости демонстрировал противоположную направленность: синтез PDGF-BB и $IL-10$ увеличивался с достоверной положительной связью ($R=0,59$; $p=0,001$).

Анализ корреляционной зависимости содержания $TGF-1\beta$ от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС при поступлении со степенью выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровнем ЛПНП, Hb_{A1c} , $INF\gamma$, $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-6$ и $IL-10$ приведено в Таблице 6.7.

Таблица 6.7. Зависимость TGF-1 β от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с синдромом диабетической стопы

Категории	До лечения	После лечения
Длительность заболевания СД	R=-0,52; p=0,003	-
Тяжесть состояния	R=-0,43; p=0,017	-
Степень поражения по Вагнеру	R=-0,48; p=0,004	R=-0,49; p=0,005
ЛПИ	R=0,49; p=0,005	R=0,68; p<0,001
Hb _{A1c}	R=-0,44; p=0,014	R=-0,48; p=0,004
ЛПНП	R=0,53; p=0,003	R=-0,47; p=0,009
INF γ	R=0,32; p=0,071	R=-0,47; p=0,009
IL-1 β	R=0,29; p=0,078	R=-0,49; p=0,006
TNF α	R=0,3; p=0,066	R=-0,54; p=0,002
IL-6	R=0,31; p=0,07	R=-0,61; p<0,001
IL-10	R=0,34; p=0,06	R=0,61; p<0,001

Примечания: R – ранговый коэффициент корреляции Спирмена, p – достоверность различий

Изученные характеристики, такие как продолжительность заболевания СД и тяжесть состояния пациентов до лечения, достоверно коррелировали с уровнем TGF-1 β с отрицательной связью средней силы (R=-0,52; p=0,003 и R=-0,43; p=0,017 соответственно), что свидетельствовало о достаточной взаимосвязи незначительной активности профиброгенного фактора TGF-1 β на метаболические и структурно-функциональные нарушения при прогрессировании заболевания. Следствием низкой продукции TGF-1 β являлось увеличение степени выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру до лечения, что подтверждалось наличием обратной зависимости (R=-0,48; p=0,004). После лечения реакция TGF-1 β характеризовалась гиперэкспрессией и увеличением активности процесса заживления диабетических ран, и, соответственно, снижением степени повреждения мягких тканей по Вагнеру, что имело признаки корреляционной зависимости с обратной связью (R=-0,49; p=0,005).

Установленная корреляционная связь между содержанием TGF-1 β и ЛПИИ как до лечения ($R=0,49$; $p=0,005$), так и после лечения ($R=0,68$; $p<0,001$) демонстрировала зависимость увеличения ЛПИИ от продукции TGF-1 β и связанной с ним пролиферативной активности.

Сопряженность TGF-1 β и Hb_{A1c} у больных с СДС до лечения имела достоверную отрицательную связь средней силы ($R=-0,44$; $p=0,014$), что отражало зависимость между нормальными и минимально повышенными показателями TGF-1 β и значительно увеличенным Hb_{A1c}. После лечения больных с СДС регистрировали интенсивный синтез TGF-1 β , что достоверно коррелировало со снижением Hb_{A1c} ($R=-0,48$; $p=0,004$). Вместе с тем контролируемое лечение гипергликемии и метаболических нарушений сопровождалось постепенным снижением уровня глюкозы и гликированного гемоглобина.

Корреляционным анализом, определяющим зависимость TGF-1 β от уровня ЛПНП, установлена прямая связь как до лечения ($R=0,53$; $p=0,003$), так и после лечения, но с обратной зависимостью ($R=-0,47$; $p=0,009$), что свидетельствовало о взаимосвязи увеличения содержания TGF-1 β с уменьшением ЛПНП на фоне лечения СД.

Анализ связи TGF-1 β с уровнями провоспалительных цитокинов в период до лечения показал отсутствие влияния: INF γ ($R=0,32$; $p=0,071$), IL-1 β ($R=0,29$; $p=0,078$), TNF α ($R=0,3$; $p=0,066$), IL-6 ($R=0,31$; $p=0,07$), что было обусловлено незначительной продукцией TGF-1 β при наличии прогрессирующего воспаления с выраженным содержанием маркеров как неспецифической, так и специфической защиты. После лечения взаимосвязь TGF-1 β и провоспалительных цитокинов имела характер обратной зависимости: INF γ ($R=-0,47$; $p=0,009$), IL-1 β ($R=-0,49$; $p=0,006$), TNF α ($R=-0,54$; $p=0,002$), IL-6 ($R=-0,61$; $p<0,001$), что демонстрировало снижение воспалительной реакции и маркерных цитокинов при значительном увеличении TGF-1 β и интенсивном заживлении ран.

Методом корреляционного анализа достоверная связь между TGF-1 β и уровнем противовоспалительного цитокина IL-10 до лечения не установлена ($R=0,34$; $p=0,06$), напротив, после лечения связь демонстрировала значимую

прямую зависимость: чем выше значения $TGF-1\beta$, тем больше противовоспалительные реакции при заживлении ран ($R=0,61$; $p<0,001$).

Таким образом, выполненный корреляционный анализ зависимости VEGFA, PDGF-BB, $TGF-1\beta$ от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС показал наличие сопряженности с длительностью заболевания СД, тяжестью состояния при поступлении, степенью выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровнем ЛПНП, Hb_{A1c} , $INF\gamma$, $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-6$ и $IL-10$.

Выводы:

1. Установлена роль факторов роста VEGFA, PDGF-BB, $TGF-1\beta$ и цитокиновой системы $INF\gamma$, $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-6$ и $IL-10$ в механизмах заживления диабетических язв.

2. Определены реакции факторов роста со снижением уровня VEGFA в 1-2-й группах в 4-4,5 раза ($p<0,001$), 3-й группе в 3,11 раза ($p<0,001$), в 4-й группе в 1,55 раза ($p<0,001$); превышением уровня PDGF-BB в 1-й группе в 1,3 раза ($p<0,001$); увеличением содержания $TGF-1\beta$ в 1,5 раза в 1-й группе ($p<0,001$), во 2-й – в 1,36 раза ($p<0,001$) и в 3-й – в 1,3 раза ($p<0,001$), что указывало на стимулирующее влияние VAC-терапии и УЗ-кавитации на процессы эффективного ангиогенеза, митогенеза и фиброгенеза в заживлении ран.

3. Исследование цитокинов у больных с СДС показало достоверное увеличение уровней $INF\gamma$ в 14,66 раз, $IL-1\beta$ в 17,15 раз, $TNF\alpha$ в 14,16 раз, $IL-6$ в 6,7 раз, $IL-10$ в 1,63 раза ($p<0,001$). После комплексного лечения установлены максимальные различия при VAC-терапии с достоверным снижением $INF\gamma$ в 8,2 раза, $IL-1\beta$ – в 4,93 раза, $TNF\alpha$ – в 8,82 раза, $IL-6$ – в 3,82 раза ($p<0,001$), и повышение $IL-10$ в 3,62 раза ($p<0,001$). Наибольшая эффективность лечения СДС установлена при VAC-терапии, применение УЗ-кавитации, лазеро-, озонотерапии и традиционными методами лечения сопровождалось менее выраженными реакциями цитокиновой системы.

4. Установлены достоверные связи между уровнем VEGFA и содержанием провоспалительных цитокинов $INF\gamma$ ($R=0,48$; $p=0,008$), $IL-1\beta$ ($R=0,54$; $p=0,002$),

TNF α (R=0,51; p=0,004) и IL-6 (R=0,86; p<0,001). После лечения анализ связи VEGFA с уровнями цитокинов показал, что снижение концентрации VEGFA ассоциируется с INF γ (R=0,42; p=0,026) и IL-6 (R=0,64; p=0,002) и IL-10 (R=-0,49; p=0,005). А на показатели IL-1 β (R=0,29; p=0,12) и TNF α (R=0,31; p=0,10) динамика VEGFA не оказывала значимого влияния.

5. Установлена достоверная корреляционная связь между уровнями PDGF-BB и ЛПНП как до лечения (R=0,76; p<0,001), так и после лечения, но с обратной зависимостью (R=-0,54; p=0,004).

6. Установлена корреляционная связь между содержанием TGF-1 β и ЛПИ как до лечения (R=0,49; p=0,005) так и после лечения (R=0,68; p<0,001), а также от уровня ЛПНП, установлена прямая связь как до лечения (R=0,53; p=0,003) так и после лечения, но с обратной зависимостью (R=-0,47; p=0,009)

ГЛАВА 7. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ И ИСХОДА ЛЕЧЕНИЯ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ С ЯЗВЕННО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

7.1. Нейросетевая модель прогнозирования послеоперационных осложнений диабетических язв стопы

Решение задачи многофакторной классификации строилось на входных данных, представленных набором факторных признаков для каждого пациента, а выходные – результатом предсказания вероятность возникновения послеоперационных осложнений. Для этого использовалась нейронная сеть на основе моделей класса «Sequential» из библиотеки для глубокого обучения «Keras», реализованная на программном языке «Python» третьей версии. Для обработки и анализа данных использовалась библиотека для поддержки высокоуровневых математических функций, предназначенных для работы с многомерными массивами «Numpy». Модель строилась на данных 782 историй болезни.

Варианты возможных послеоперационных осложнений, включенные в модель, были представлены следующими признаками: гематома, раневая инфекция, некроз окружающих тканей, кровотечение из раны.

После разделения полученного набора данных на множества для обучения и тестирования с помощью функции «train_test_split» с параметром test_size=0.1, было определено, что 10% данных (к общему количеству) было выбрано для тестирования модели, а оставшиеся 90% – для обучения.

Первый слой искусственной нейронной сети (ИНС) модели «Sequential» содержал информацию о размерности входных данных, передав аргумент input_shape со значением (5, 1), указывающий, что одномерный массив данных состоит из пяти числовых значений.

Структура данного массива была следующая:

1. Тип диабета (1 или 2)
2. Степень по Вагнеру левая (1–3)
3. Степень по Вагнеру правая (1–3)
4. Пол (0 – муж., 1 – жен.)
5. Тяжесть состояния при поступлении (1 – относит. удовлетворительное, 2 – средней тяжести, 3 – тяжелое).

Далее в нейронной сети были созданы 4 скрытых полносвязных слоя с функциями активации «selu», «relu», «sigmoid» и «softplus», а также выходной нейронный слой с функцией активации «softmax», выходом которого является вероятность возникновения того или иного осложнения в будущем. Выходные данные осложнения были закодированы следующим образом: 0 – условная вероятность возникновения гематомы, 1 – условная вероятность раневой инфекции, 2 – условная вероятность некроза окружающих тканей, 3 – условная вероятность расхождение краев раны, 4 – условная вероятность кровотечения из раны. На Рисунке 7.1. представлено описание параметров данных, включенных в полученную модель.

Layer (type)	Output Shape	Param #
=====	=====	=====
flatten_1 (Flatten)	(None, 13)	0
dense_5 (Dense)	(None, 256)	3584
dense_6 (Dense)	(None, 512)	131584
dense_7 (Dense)	(None, 256)	131328
dense_8 (Dense)	(None, 64)	16448
dense_9 (Dense)	(None, 4)	260
=====	=====	=====
Total params: 283,204		
Trainable params: 283,204		
Non-trainable params: 0		

Рисунок 7.1- Описание параметров данных полученной нейросетевой модели

Для компилирования модели искусственной нейронной сети был использован оптимизатор «adam» с применением функции потерь «категориальная кросс-энтропия», в качестве метрической оценки модели были вычислены чувствительность, специфичность и точность. В итоге создаваемая нейронная сеть имела архитектуру искусственной нейронной сети, показанную на Рисунке 7.2.

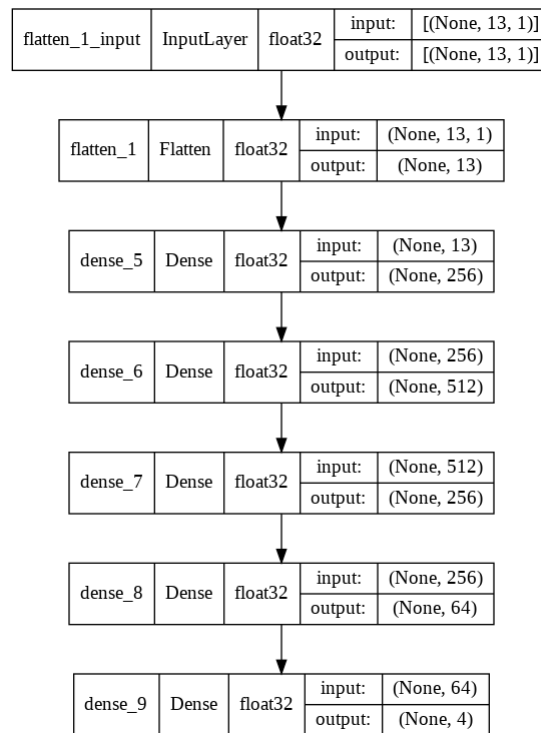


Рисунок 7.1. Архитектура искусственной нейронной сети

Обучение модели искусственной нейронной сети осуществлялось на заранее подготовленном наборе данных с размером пакета обучения равным 8 и 64 эпохам. Для оценки чувствительности, специфичности и точности предсказаний был использован тестовый набор данных.

Наглядно интерфейс нейросетевой модели представлен на Рисунке 7.3, который имеет текстовый ввод для всех 5 входных параметров модели с клавиатуры ПК.

```

Введите тип диабета: 2
Введите степень по Вагнеру левую : 1
Введите степень по Вагнеру правую : 3
Введите пол: 1
Введите тяжесть при поступлении: 2

```

Рисунок 7.2. Пример ввода входных данных

После введения входных параметров модели (Рисунок 7.4) быстро формируется результат прогнозирования в виде расчета условных вероятностей для каждого типа исходов (0–4).

```

Результаты:
Вероятность гематомы: 0.15643495
Вероятность раневой инфекция: 0.48119965
Вероятность некроза окружающих тканей: 0.3085282
Вероятность расхождения краев раны: 0.04967407
Вероятность кровотечений из раны: 0.0041630995

```

Рисунок 7.3. Пример вывода результатов прогнозирования

Для оценки эффективности модели из исходного множества данных (782) было случайно выбрано 48 случаев из обучающего множества и 48 случаев для тестового множества. По результатам нейросетевого прогнозирования послеоперационных осложнений были рассчитаны чувствительность, специфичность модели и ее точность. В Таблице 7.1 представлены результаты прогнозирования осложнений с использованием математической модели (5 входных признаков), созданной с применением искусственной нейронной сети.

В результате проведенных расчетов на обучающем множестве было отнесено к 0-му виду осложнений 10 случаев из 12 или 83,3%, к 1-му виду осложнений – 10 случаев из 12 или 83,3%, ко 2 виду – 6 случаев из 8 или 75,0%, к 3-му виду осложнений – 7 случаев из 8 или 87,5%, и наконец, к 4-му виду осложнений – 8 случаев из 8 или 100%. При этом количество ложноположительных случаев при прогнозировании в среднем составило 10,8%, а ложноотрицательных случаев – 8,9%.

Таблица 7.1- Результаты прогнозирования возникновения послеоперационных осложнений с использованием нейросетевой модели (5 входных признаков)

Показатель прогноза	Обучающее множество (виды осложнений)					Тестовое множество (виды осложнений)				
	0 вид	1 вид	2 вид	3 вид	4 вид	0 вид	1 вид	2 вид	3 вид	4 вид
Всего случаев	12	12	8	8	8	12	12	8	8	8
Отнесено к 0 виду	10	1	1	0	0	10	1	1	0	0
Отнесено к 1 виду	1	10	1	0	0	2	11	1	0	0
Отнесено к 2 виду	1	1	6	1	0	0	0	6	1	0
Отнесено к 3 виду	0	0	0	7	0	0	0	0	7	2
Отнесено к 4 виду	0	0	0	0	8	0	0	0	0	6
Чувствительность, %	83,3	83,3	75,0	87,5	100	83,3	91,7	75,0	87,5	75,0
Специфичность, %	83,3	83,3	66,7	100,0	100,0	83,3	78,6	85,7	77,8	100,0
Ложноположит. случаи	8,3	8,3	25,0	12,5	0,0	16,7	8,3	25,0	12,5	25,0
Ложноотрицат. случаи	16,7	16,7	11,1	0,0	0,0	21,4	21,4	14,3	22,2	0,0

При выполнении прогнозирования на тестовом множестве были получены следующие показатели: к 0-му виду осложнений было отнесено 10 случаев из 12 или 83,3%, к 1-му виду осложнений – 11 случаев из 12 или 91,7%, ко 2 виду – 6 случаев из 8 или 75,0%, к 3-му виду осложнений – 7 случаев из 8 или 87,5% и, наконец, к 4-му виду осложнений – 6 случаев из 8 или 75,0%. При этом количество ложноположительных случаев при прогнозировании в среднем составило 17,5%, а ложноотрицательных случаев – 15,9%.

Таким образом, уровень чувствительности (Se) модели составил 82,5% (95%ДИ:79,5-85,3), специфичности (Sp) – 85,1% (95%ДИ:75,5-94,7) и точности – 82%(95%ДИ:80,1-83,9).

Сравнение доли ложноположительных случаев для контрольного и тестового множеств с помощью применения углового преобразования Фишера (с учетом поправки Йейтса) с двусторонней критической областью ($T=0,48$, число степеней свободы $k=18$) статистически значимого отличия контрольного и тестового множеств не было выявлено при $p=0,637$.

Таким образом, статистически значимых различий между показателями удельного веса ложноположительных и ложноотрицательных случаев на контрольном и тестовом множестве не выявлено.

Исходя из значений чувствительности и специфичности, была построена характеристическая кривая (ROC-кривая), величина площади под которой (AUC) составила 0,890.

На Рисунке 7.5 представлены ROC-кривая для модели ИНС с 5-ю входными признаками, полученная с помощью методики построения ROC-curved в модуле статистической программы «IBM SPSS Statistics 21.0».

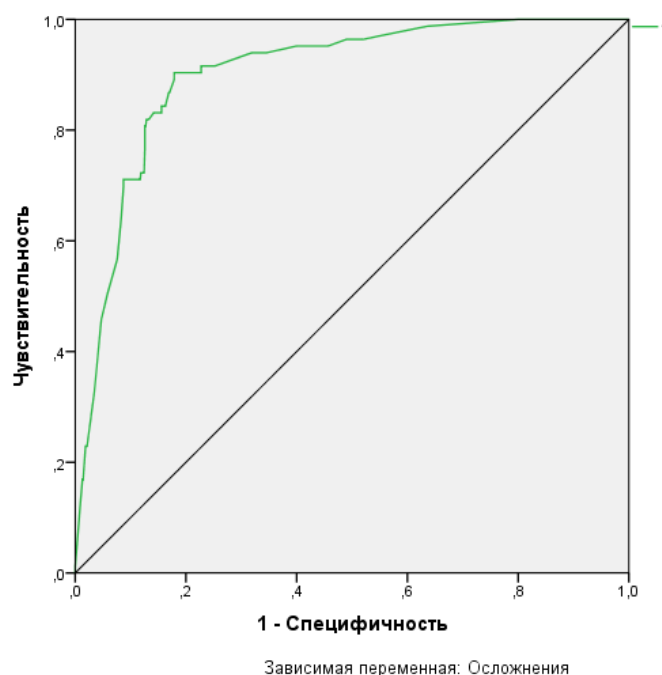


Рисунок 7.5 -ROC-кривая для модели ИНС с 5-ю входными признаками

По площади модель ИНС с 5 входными признаками составила 0,890, что соответствует показателю «высокое качество».

Линейная корреляционная связь между резидуальными остатками и результирующим признаком, резидуальными остатками и входными факторными признаками в данных модели отсутствует (коэффициент множественной сериальной корреляции между ними не превышал 0,01). Распределение остатков в модели ИНС подчиняется нормальному закону распределений случайных величин Гаусса.

На Рисунке 7.6 приведен график взаимосвязи результатов прогнозирования модели, рассчитанных с искусственной нейронной сети (на 5 входных признаках) и исходных данных в обучающем множестве в следующих координатах: предсказанное значение (переменная «Осл.мод.») (по оси Y) и истинное значение (переменная «Осл.исх.»)(по оси X).

Уравнение зависимости показателя «Осл.исх.» от показателя «Осл.мод.» принимает следующий вид линейной регрессии:

$$\text{«Осл.исх.»} = 0,874 * \text{«Осл.мод.»} + 0,088, \text{ при } r = 0,913, r^2 = 0,822$$

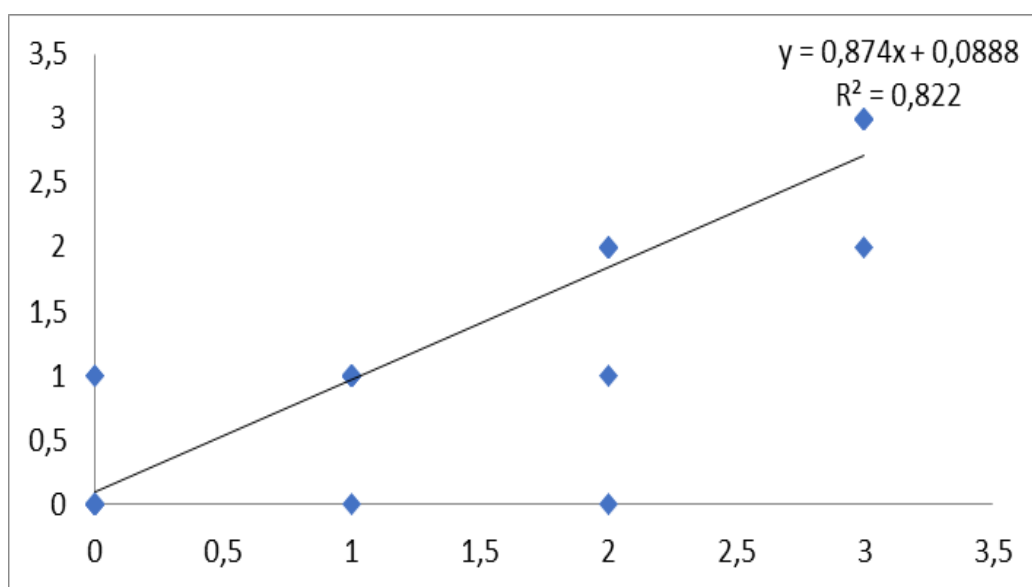


Рисунок 7.6 -График взаимосвязи результатов прогнозирования модели

Высокое значение коэффициента корреляции между прогнозируемыми показателями и исходными данными (при $R=0,913$ и $R^2= 0,822$) свидетельствует о достаточной прогностической эффективности математической модели

прогнозирования послеоперационных осложнений, созданной с применением искусственных нейронных сетей.

Выводы.

В результате проведенной исследовательской работы была создана искусственная нейронная сеть с четырьмя слоями, которая может использоваться для прогнозирования возникновения послеоперационных осложнений у больных диабетической стопой на входных признаках: тип диабета, степень по Вагнеру, пол и тяжесть состояния пациента при поступлении. На основании проведенных расчетов параметров модели чувствительность ее составила 82,5% (95%ДИ:79,5-85,3), специфичность – 85,1%(95%ДИ:75,5-94,7) и точность – 82,0% (95%ДИ:80,1-83,9). Точность данной модели может быть повышена путем расширения исходной базы данных пациентов, и как следствие – проведения обучения модели на обучающей выборке большего объема. Полученная математическая нейросетевая модель позволяет с высокой степенью прогностической способности предсказывать вероятность послеоперационных осложнений у больных с диабетической стопой.

7.2. Математическое прогнозирование исхода лечения у больных с СДС

Для решения задачи прогнозирования исходов лечения были построены несколько математических моделей. В качестве входных параметров были выбраны параметры соматического и хирургического анамнеза – всего 14 факторов, которые либо присутствовали у больного (признак равен «1»), либо отсутствовали (признак равен 0), либо были выражены количественными или порядковыми показателями.

Была поставлена задача прогнозирования нормального протекания лечебного процесса (прогнозируемая переменная принимает значение «0») и неблагоприятного протекания лечебного процесса с последующей инвалидизацией (прогнозируемая переменная принимает значение «1»). Модель строилась на данных 782 историй болезни. Выходную переменную «исход лечения» обозначали через «ИЛ».

При построении модели важнейшим фактором является отбор наиболее значимых входных факторов в модели и правильный выбор ее структуры (линейная, параболическая, полиномиальная и т.д.).

При выборе наиболее значимых входных переменных модели разработаны специальные подходы: метод пошагового включения, метод пошагового исключения, методы смешанного типа. В последнее время для решения многих задач выбора переменных используют метод «генетический алгоритм».

На начальном этапе создания модели была построена логистическая многофакторная модель на 14-ти входных переменных с применением метода пошагового принудительного включения переменных. Затем на втором этапе с применением метода пошагового выборочного исключения были отобраны 5 переменные («Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулиноterapia»). И в завершении на 3-м этапе моделирования методом пошагового исключения было отобрано всего 3 переменные («Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней»). Результаты прогнозирования моделей представлены в Таблицах 7.2., 7.3, 7.5.

Таблица 7.2- Результаты прогнозирования с применением логистической многофакторной модели (на 14 входных признаках)

	Приведенное множество				Всего
	1	%	0	%	
Всего случаев	703	90,1	77	9,9	780
Отнесено к 1	692	98,1	13	1,9	705
Отнесено к 0	11	14,7	64	85,3	75
Множест. коэфф. корреляции, R	0,960				
Множест. коэфф. детермин. R^2	0,922				
Скоррект. коэфф. детермин. R^2	0,930				
F-критерий Фишера	834,1				
p	0,0001				
Стд. Ош. Оценки	0,223				
Критерий Дарбина-Уотсон	1,907				
Сериальная коррел. остатков	0,0289				
Чувствительность	98,4 (95%ДИ: 99,1- 94,5)				
Специфичность	83,1 (95%ДИ: 94,1- 71,0)				
Точность модели	96,9(95%ДИ: 94,4- 98,7)				

Абсолютные величины коэффициентов регрессии позволили расположить предикторы в ряд по убыванию их относительного вклада (β -коэфф.) в прогнозировании итоговой переменной регрессионного уравнения.

Таблица 7.2- Некоторые параметры и коэффициенты биномиальной многофакторной модели (на 14 входных признаках)

Показатели итоговых статистик	Усл. Обоз н.	β – коэф ф.	станд артна я.оши бка. β	В- коэф ф.	ст.о ш. В	Стат. Вальд а	р- знач.
Тип СД	X1	0,000	0,000	- 19,642	1,769	0,000	0,999
ст. Вагнер слева	X 2	0,898	0,079	-0,108	0,099	1,198	0,274
ст. Вагнер справа	X 3	1,020	0,096	0,020	0,106	0,034	0,853
Возраст	X 4	1,018	0,014	0,018	0,014	1,597	0,206
Пол	X 5	0,755	0,158	-0,281	0,276	1,037	0,308
Давность заболевания	X 6	0,989	0,019	-0,011	0,020	0,337	0,561
Тяжесть заболевания	X 7	0,436	0,066	-0,830	0,185	20,126	0,000
Операция	X 8	0,851	0,122	-0,161	0,173	0,871	0,351
Койко-дни	X 9	0,944	0,017	-0,058	0,019	9,405	0,002
Осложнения	X 10	0,600	0,128	-0,511	0,284	3,243	0,072
Соп. диагноз	X 11	0,666	0,142	-0,406	0,284	2,039	0,153
Остеомиелит стопы	X 12	1,362	0,342	0,309	0,356	0,752	0,386
Инсулиноterapia	X 13	0,597	0,134	-0,515	0,304	2,870	0,090
Сосуд. операции	X 14	0,856	0,238	-0,155	0,414	0,140	0,708
Константа	C	-	-	43,476	-	-	0,999

После расчета биномиальной многофакторной модели были получено уравнение 1:

$$\begin{aligned} \text{«ИЛ» } 1 = & \exp (43,476 - 19,642 \cdot X_1 - 0,108 \cdot X_2 + 0,020 \cdot X_3 + 0,018 \cdot X_4 - 0,281 \cdot X_5 - \\ & 0,011 \cdot X_6 - 0,830 \cdot X_7 - 0,161 \cdot X_8 - 0,058 \cdot X_9 - 0,511 \cdot X_{10} - 0,406 \cdot X_{11} + \\ & 0,309 \cdot X_{12} - 0,515 \cdot X_{13} - 0,155 \cdot X_{14}) / (1 + \exp(43,476 - 19,642 \cdot X_1 - 0,108 \cdot X_2 + \\ & 0,020 \cdot X_3 + 0,018 \cdot X_4 - 0,281 \cdot X_5 - 0,011 \cdot X_6 - 0,830 \cdot X_7 - 0,161 \cdot X_8 - 0,058 \cdot X_9 - \\ & 0,511 \cdot X_{10} - 0,406 \cdot X_{11} + 0,309 \cdot X_{12} - 0,515 \cdot X_{13} - 0,155 \cdot X_{14}) \pm 0,2344), (1) \end{aligned}$$

где «ИЛ»1 – выходная переменная «Исход лечения», X1– «Тип СД», X2 – «ст. по Вагнеру слева», X3 – «ст. по Вагнеру справа», X4 – «Возраст», и т.д. согласно

таблице 7.2.2., $\pm 0,2344$ (m) – стандартная средняя ошибка B-коэффициентов в модели.

Анализ качества модели указывает на достаточно высокие прогностические способности логистической модели на 14 признаках. При этом, исходя из уравнения 1 и таблицы 8.1.2, можно сделать вывод, что наличие даже только четырех входных признаков X7, X9, X10 и X13 в рамках предложенной модели приводит к достоверному прогнозу показателя «ИЛ», а значит, и отнесению данных конкретного случая к определенному виду исхода как благоприятного (выписан пациент или выписан на амбулаторное лечение), так и неблагоприятного результата (инвалидность). Для остальных предъявленных признаков в уравнении 1 для прогнозирования показателя «ИЛ» необходимо подкрепление их еще каким-либо входным признаком. Поэтому, учитывая высокие показатели p (уровень значимости $>0,05$) для указанных входных предикторов, расчетными значениями для этих факторов при определенных условиях в уравнении модели можно пренебречь.

На следующем 2-м этапе моделирования методом пошагового выборочного исключения факторов в уравнение логистической регрессии было отобрано 5 переменных: «Тип СД», «Тяжесть заболевания при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулиноterapia». Выходную переменную обозначим через «ИЛ 2». Результаты прогнозирования моделей представлены в Таблице 7.3.

Таблица 7.3- Результаты прогнозирования с применением логистической многофакторной модели (на 5 входных признаках)

	Приведенное множество				Всего
	1	%	0	%	
Всего случаев	703	90,1	77	9,9	780
Отнесено к 1	695	98,3	12	1,7	707
Отнесено к 0	8	10,9	65	89,1	73
Множест. коэфф. корреляции, R	0,972				$p=0,001$
Множест. коэфф. детермин. R^2	0,944				$p=0,001$
Скоррект. коэфф. детермин. R^2	0,940				$p=0,001$
F-критерий Фишера	1497,1				$p=0,001$
-2 Log правдоподобия	415,705				

Продолжение Таблицы 7.3		
χ^2 Пирсона	87,016	p=0,001
Критерий Хосмера –Лемешова	12,758	p=0,008
Критерий Дарбина-Уотсон	1,95	p=0,01
Сериальная коррел. остатков	0,015	p=0,01
Чувствительность	98,8 (95%ДИ: 97,9 - 99,5)	
Специфичность	84,4 (95%ДИ: 75,4- 91,7)	
Точность предсказания	97,4(95%ДИ: 95,3 - 99,7)	

В таблице 7.3 представлены итоговые статистики по модели 2 (5 входных предикторов), из которой можно увидеть, что значение множественного коэффициента корреляции (R) составляет 0,972, множественный коэффициент детерминации – 0,944 и скорректированное значение коэффициента детерминации (R^2) – 0,940. Значение F-критерия в первой модели составило 1497,1 при p=0,001, что почти в 1,79 раза выше, чем в 1-й модели. Скорректированное значение коэффициента детерминации во 2-й статистически не отличается от грубого значения R^2 в моделях №№ 1 и 2.

Расчет результатов прогнозирования показателя «ИЛ 2» на приведенном множестве показал, что случаи с истинноположительным результатом составили 98,8%, а случаи с истинноотрицательным результатом – 84,4%. В связи с этим расчетные показатели чувствительности модели составили 98,8% (95%ДИ: 97,9 - 99,5), а специфичности – 84,4% (95%ДИ: 75,4- 91,7). Точность предсказания модели составила – 89,6% (95%ДИ: 95,3 - 99,7).

Формула для расчета показателя «ИЛ 2» во 2-й модели включает 5 входных предикторов. Результаты расчета коэффициентов модели представлены в таблице 7.4. Абсолютные величины коэффициентов регрессии позволили расположить предикторы в ряд по убыванию их относительного вклада (β -коэфф.) в прогнозирование итоговой переменной логистического регрессионного уравнения: «Количество койко-дней» > «Наличие осложнений» > «Инсулинотерапияина» > «Тяжесть состояния пациента при поступлении» > «Тип СД»: |0,936|> |0,569|> |0,537|> |0,406|> |0,001|.

Таблица 7.4- Некоторые параметры и коэффициенты логистической многофакторной модели (на 5 входных признаках)

Показатели итоговых статистик	Усл. Обозн.	β – коэф. ф.	Станд. ошиб. β	В-коэф. ф.	ст.ош. В	Стат. Вальда	р-знач.
Тип СД	X1	0,001	0,0001	-19,42	0,014	0,00	0,000
Тяжесть состояния при поступлении	X2	0,406	0,059	-0,90	0,019	25,95	0,000
Количество койко-дней	X3	0,936	0,016	-0,07	0,002	14,57	0,000
Наличие осложнений	X4	0,569	0,111	-0,56	0,026	5,03	0,007
Инсулиноterapia	X5	0,537	0,116	-0,62	0,021	4,62	0,043
Константа	C	-	-	43,674	-	-	-

После расчета коэффициентов было получено уравнение логистической многофакторной модели 2:

$$\langle \text{ИЛ } 2 \rangle = \exp (43,674 - 9,42 * X1 - 0,90 * X2 - 0,07 * X3 - 0,56 * X4 - 0,62 * X5) / (1 + \exp (43,674 - 9,42 * X1 - 0,90 * X2 - 0,07 * X3 - 0,56 * X4 - 0,62 * X5)) \pm 0,1895), (2)$$

где X1–« Тип СД», X2 – «Тяжесть состояния пациента при поступлении», X3 – «Количество койко-дней», X4 – «Наличие осложнений», X5– «Инсулиноterapiaина», «ИЛ 2» – выходная переменная «Исход лечения», $\pm 0,1895$ (m) – стандартная средняя ошибка В-коэффициентов в модели.

Анализ качества модели указывает на достаточно высокие прогностические способности многофакторной логистической модели на 5 признаках, при этом без ухудшения основных регрессионных показателей. Исходя из уравнения 2 и табл.7.2.4 можно сделать вывод, что наличие данных X3, X4, X5 в рамках предложенной модели приводит уже к достоверному прогнозу показателя «ИЛ». Для остальных выделенных признаков в уравнении 2 (X1, X2) для прогнозирования показателя «ИЛ» необходимо подкрепление его еще каким-либо значимым признаком.

Расчет статистик и оценка остатков моделей с применением метода расчета критерия Дарбина-Уотсон и сериальной корреляции остатков выявил, что

коэффициент Дарбина-Уотсон принимал значение 1,95 для 2-й модели, что практически не отличается от 1-й модели (1,907), при этом коэффициент сериальной корреляции был на уровне 0,015 (в 1-й модели 0,0289). Это подтверждает гипотезу, которая указывает на отсутствие автокорреляции остатков результирующего и факторных признаков в модели 2.

На следующем, 3-м, этапе моделирования методом пошагового исключения факторов для уравнения логистической многофакторной регрессии были отобраны лишь 3 переменные: «Тип СД» (X1), «Тяжесть состояния пациента при поступлении» (X2), «Количество койко-дней» (X3). Выходную переменную обозначим через «ИЛ 3». Результаты прогнозирования моделей представлены в Таблице 7.5.

Таблица 7.5 Результаты прогнозирования с применением логистической многофакторной модели (на 3 входных признаках)

	Приведенное множество				Всего
	1	%	0	%	
Всего случаев	705	90,2	77	9,8	782
Отнесено к 1	686	98,8	8	1,2	694
Отнесено к 0	19	21,6	69	78,4	88
Множест. коэфф. корреляции, R	0,968				
Множест. коэфф. детермин. R^2	0,937				
Скоррект. коэфф. детермин. R^2	0,930				
F-критерий Фишера	1213,2				
p	0,0001				
Стд. Ош. Оценки	0,320				
Критерий Дарбина-Уотсона	1,912				
Сериальная коррел. остатков	0,027				
Чувствительность	97,3 (95%ДИ: 96,0- 98,4)				
Специфичность	89,6 (95%ДИ: 81,7- 95,5)				
Точность модели	96,5(95%ДИ: 94,2- 98,6)				

В таблице 7.2.5 представлены итоговые статистики по модели 3 (3 входных предиктора), из которой можно увидеть, что значение множественного коэффициента корреляции (R) составляет 0,968, скорректированное значение коэффициента детерминации (R^2) – 0,937. Значение F-критерия в 3-й модели составило 1213,2 при $p=0,001$, что незначительно, в 1,2 раза выше, чем во 2-й

модели. Однако скорректированное значение коэффициента детерминации в модели 3 практически не отличается от грубого значения R^2 в модели 2.

Расчет статистик и оценка остатков моделей с применением метода расчета и оценки критерия Дарбина-Уотсон и сериальной корреляции остатков выявил, что коэффициент Дарбина-Уотсон принимал значение 1,912 для 3-й модели, что практически не отличается от показателя для 2-й модели (1,95), при этом, коэффициент сериальной корреляции был на уровне 0,027 (во 2-й модели 0,015). Это подтверждает гипотезу, которая также указывает на отсутствие в модели 3 автокорреляции остатков, результирующего и факторных признаков.

Расчет результатов прогнозирования показателя «ИЛ 3» на приведенном множестве показал, что случаи с истинноположительным результатом составили 97,3%, а случаи с истинноотрицательным результатом – 89,6%. В связи с этим расчетные показатели чувствительности модели были на уровне 97,3% (95%ДИ: 96,0- 98,4), а специфичности – 89,6%(95%ДИ: 81,7- 95,5). Точность предсказания модели составила 96,5% (95%ДИ: 94,2- 98,6).

Формула для расчета показателя «ИЛ» в 3-й модели включает 3 входных предиктора. Результаты расчета коэффициентов модели представлены в Таблице 7.6. Абсолютные величины коэффициентов регрессии позволили расположить предикторы в ряд по убыванию их относительного вклада (β -коэфф.) в прогнозировании итоговой переменной регрессионного уравнения: «Тяжесть состояния пациента при поступлении» > «Количество койко-дней» > «Тип СД»: $|0,930| > |0,330| > |0,001|$.

Таблица 7.6- Некоторые параметры и коэффициенты логистической многофакторной модели (на 3-х входных признаках)

Показатели итоговых статистик	Усл. Обоз н.	β – коэф ф.	станд артна я.оши бка. β	В- коэф ф.	ст.о ш. В	Стат. Вальд а	р- знач.
Тип СД	X1	0,001	0,0001	-19,07	1,288 5	0,00	0,0001
Тяжесть состояния при поступлении	X2	0,93	0,015	-0,07	0,017	19,53	0,0001

Продолжение Таблицы 7.6							
Количество койко-дней	X3	0,33	0,046	-1,10	0,164	45,13	0,0001
Константа		-	-	42,87	-	-	-

После расчета коэффициентов было получено уравнение логистической многофакторной регрессии 3:

$$\langle \text{ИЛ } 3 \rangle = \exp(42,87 - 19,07 \cdot X_1 - 0,07 \cdot X_2 - 1,1 \cdot X_3) / (1 + \exp(42,87 - 19,07 \cdot X_1 - 0,07 \cdot X_2 - 1,1 \cdot X_3)) \pm 0,0952, (3)$$

где X_1 – «Тип СД», X_2 – «Тяжесть состояния пациента при поступлении», X_3 – «Количество койко-дней», «ИЛ 3» – выходная переменная «Исход лечения», « $\pm 0,0952$ » – (m) стандартная средняя ошибка B-коэффициентов в модели.

Анализ качества модели указывает на достаточно высокие прогностические способности многофакторной биномиальной модели на 3-х признаках, при этом без ухудшения основных регрессионных показателей. Исходя из уравнения 3 и Таблица 7.6, можно сделать вывод, что наличие данных X_1 , X_2 , X_3 в рамках предложенной модели не приводит к статистически значимому ухудшению достоверного прогноза показателя «ИЛ».

Таким образом, многофакторные логистические модели показали высокую чувствительность при прогнозировании показателя «Исход лечения заболевания», причем уменьшение числа входных признаков до 3-х не снижает прогностические способности модели.

Анализ частоты встречаемости определенного типа исхода лечения при разных типах СД (Таблица 7.7) показал, что из 773 пациента со 2-м типом СД 2,9% больных (23 чел.) были выписаны, 86,1% (673 чел.) переведены на амбулаторное лечение и лишь 9,8% (77 чел.) получили инвалидность разной степени. При СД 1-го типа (9 чел.) к труду не выписан никто, и никто не получил инвалидности, и лишь 1,2% (9 чел.) от общего количества переведены на амбулаторное лечение. Таким образом, наибольший риск инвалидизации был зарегистрирован при 2-м типе СД.

Таблица 7.7- Частота встречаемости значений показателя «ИЛ» в зависимости от типа СД

Тип СД	Исход лечения							
	выписан к труду		амб.лечение		инвалидизация		Всего	
1	0	0,0%	9	1,2%	0	0,0%	9	1,2%
2	23	2,9%	673	86,1%	77	9,8%	773	98,8%
Всего	23	2,9%	682	87,2%	77	9,8%	782	100,0%

Анализ частоты встречаемости определенного типа исхода лечения в зависимости от разной тяжести состояния больного при поступлении (Таблица 7.8) показал, что из 782 пациентов, поступивших на стационарное лечение, 80,4%(629 чел.) поступили в удовлетворительном состоянии, 12,8% (100 чел.) – в состоянии средней тяжести и 6,8%(53 чел.) – в тяжелом состоянии. Среди пациентов с удовлетворительным состоянием были выписаны к труду и на амбулаторное лечение 3,7%(23 чел.) и 90,3%(568 чел.) соответственно. Переведено на инвалидность 6,0%(38 чел.). Среди лиц с состоянием средней тяжести переведено на инвалидность уже 15,0%(15 чел.). Процент пациентов с тяжелым состоянием, переведенных на инвалидность, составил 45,3%(24 чел.). Риск инвалидизации у лиц с тяжелым состоянием увеличился в 7,6 раз в сравнении с больными с удовлетворительным состоянием.

Таблица 7.8- Частота встречаемости показателя «ИЛ» в зависимости от тяжести состояния больного при поступлении

Тяжесть состояния при поступлении	Исход лечения							
	выписан к труду		выписан на амб.лечение		инвалидизация		Всего	
Удовлетворительное - 1	23	3,7%	568	90,3%	38	6,0%	629	80,4%
Средней тяжести - 2	0	0	85	85,0%	15	15,0%	100	12,8%
Тяжелое – 3	0	0	29	3,7%	24	45,3%	53	6,8%
Всего	23	2,9%	682	87,2%	77	9,8%	782	100,0%

Анализ средних значений длительности госпитализации при разных типах исхода лечения показал (Рисунок 7.1), что лица, которые были выписаны к труду, в среднем находились на стационарном лечении $9 \pm 0,4$ (95%ДИ:8-9,5) койко-дней, а больные, которые были выписаны на амбулаторное лечение, находились в стационаре в среднем $11 \pm 0,2$ (95%ДИ:10,2-11,1) койко-дней. Больные, переведенные на инвалидность, находились в стационаре в среднем $15 \pm 0,8$ (95%ДИ:13,7-16,8) койко-дней, что статистически значимо было выше, чем у лиц, выписанных или переведенных на амбулаторное лечение ($p < 0,05$).

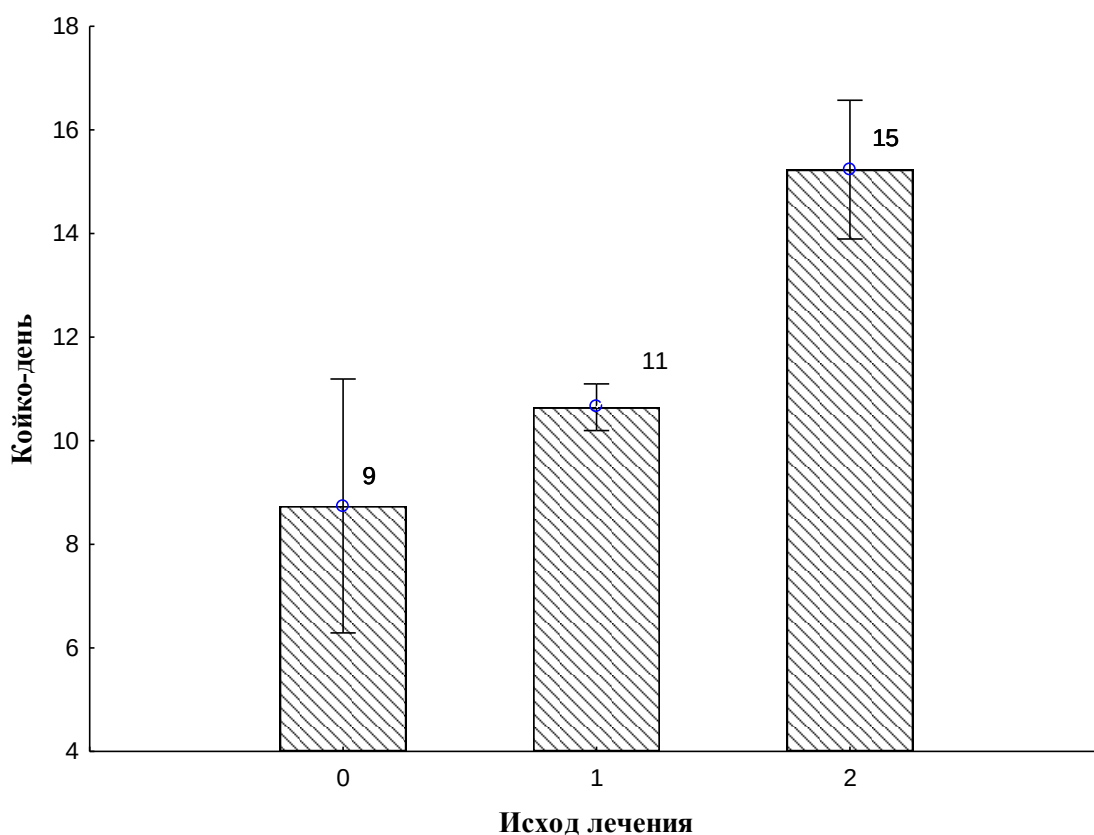


Рисунок 7.1. Средние значения сроков госпитализации в зависимости от показателя «ИЛ»

Анализ частоты встречаемости определенного типа исхода лечения при разных типах осложнений у больного (Таблица 7.9) показал, что из 782 больных 87,3% (683 чел.) имели легкие осложнения, которые не угрожали здоровью, у 10,6% (83 чел.) имелись осложнения, угрожающие здоровью и трудоспособности. Процент лиц с осложнениями, угрожающими жизни, составил 2,0% (16 чел.).

Количество больных с легкими осложнениями, переведенных на инвалидность, составило 7,8% (53 чел.), а пациентов со средне-тяжелыми осложнениями, угрожающими здоровью и трудоспособности, и переведенных на инвалидность, достоверно было в 2,8 раз больше (21,7%), чем в группе с легкими осложнениями. А доля переведенных на инвалидность пациентов, имеющих тяжелые осложнения, которые угрожали жизни, доля переведенных на инвалидность пациентов составила 37,5%, что было уже в 4,8 раза больше, чем больных с легкими осложнениями.

Таблица 7.9- Частота встречаемости значений показателя «ИЛ» в зависимости от типа осложнений

Осложнения	Исход лечения							
	выписан к труду		выписан к труду, амб. лечение		инвалидизация		Всего	
Не играет значения	22	3,2%	608	89,0%	53	7,8%	683	87,3%
Угрожает здоровью и трудоспособности	1	1,2%	64	77,1%	18	21,7%	83	10,6%
Угрожает жизни	0	0,0%	10	62,5%	6	37,5%	16	2,0%
Всего	23	2,9%	682	87,2%	77	9,8%	782	100%

Анализ частоты встречаемости определенного типа исхода лечения при наличии или отсутствии у больных инсулинотерапии (Таблица 7.10) показал, что из общего количества наблюдаемых пациентов 49,0% (383 чел.) лиц принимали инсулинотерапию. Среди них выписаны к труду 3,7%(14 чел.) и переведены на амбулаторное лечение 81,7%(313 чел.). Удельный вес лиц, которых перевели на инвалидность при применении инсулинотерапии, составил 14,6% (56 чел.), что в 2,8 раза было больше, чем среди больных, которые не принимали инсулин.

Таблица 7.10- Частота встречаемости показателя «ИЛ» в зависимости от наличия инсулинотерапии

Инсулин	Исход лечения							
	выписан к труду		выписан на амб.лечение		инвалидизация		Всего	
нет	9	2,2%	369	92,5%	21	5,3%	399	51,0%
да	14	3,7%	313	81,7%	56	14,6%	383	49,0%
Всего	23	2,9%	682	87,3%	77	9,8%	782	100,0%

Анализ частоты встречаемости определенного типа исхода лечения при разном количестве проведенных оперативных вмешательств у больного при поступлении (Таблица 7.11) показал, что среди общего количества исследованных пациентов 89,4% не имели оперативных вмешательств или имели не более 1 случая, а у 10,6% было зарегистрировано 2 и более оперативных вмешательства. Удельный вес лиц, переведенных на инвалидность среди больных, у которых не было операций, составил 3,7%, а среди пациентов с одной операцией – 12,5%, среди пациентов с двумя операциями – 22,9%, с тремя операциями – 36,4%, что было в среднем в 9,8 раз больше, чем у больных без оперативных вмешательств.

Таблица 7.11- Частота встречаемости показателя «ИЛ» в зависимости от количества проведенных оперативных вмешательств

Исход лечения								
Количество проведенных оперативных вмешательств	выписан к труду		выписан к труду, амб.лечение		инвалидизация		Всего	
0	19	5,5%	315	90,8%	13	3,7%	347	44,4 %
1	4	1,1%	304	86,4%	44	12,5 %	352	45,0 %
2	0	0,0%	54	77,1%	16	22,9 %	70	9,0%
3	0	0,0%	7	63,6%	4	36,4 %	11	1,4%
6	0	0,0%	1	100%	0	0,0%	1	0,1%
9	0	0,0%	1	100%	0	0,0%	1	0,1%
Всего	23	2,9%	682	87,2%	77	9,8%	782	100 %

Верификация качества модели (ROC-анализ)

Построение и оценка ROC-кривой (Receiver Operator Characteristic) наиболее часто используется для представления результатов в основном, бинарной классификации на этапах математического моделирования. Поскольку показатель «ИЛ» принимает одно из двух значений, один из которых может называться классом с положительными исходами (лица, выписанные из стационара или переведенные на амбулаторное лечение), второй – классом с неудовлетворительными исходами (лица, получившие инвалидность).

ROC-кривая показывает зависимость количества верно классифицированных положительных примеров от количества неверно классифицированных отрицательных примеров. В терминологии ROC-анализа первые называются истинноположительным, вторые – ложноотрицательным множеством. При этом предполагается, что у классификатора имеется некоторый параметр, варьируя который мы будем получать то или иное разбиение на два класса. Этот параметр часто называют порогом или точкой отсечения (cut-off value). Для прогностических моделей рекомендуется проводить количественную оценку качества модели. Для ее получения рассчитываются такие показатели как чувствительность и специфичность. Исходя из значений чувствительности и специфичности, строится характеристическая кривая (ROC-кривая) (Receiver Operating Characteristic curve), по форме и по величине площади которой (AUC) можно судить об удачности модели.

Для идеального классификатора график ROC-кривой обычно проходит через верхний левый угол, где доля истинноположительных случаев составляет 100% или 1,0 (идеальная чувствительность), а доля ложноположительных примеров равна нулю. Поэтому чем ближе кривая к верхнему левому углу, тем выше предсказательная способность модели. Наоборот, чем меньше изгиб кривой и чем ближе она расположена к диагональной прямой, тем менее эффективна модель. Диагональная линия соответствует «бесполезному» классификатору, т.е. полной неразличимости двух классов.

Ниже, на Рисунках 7.2, 7.3, 7.4, представлены ROC-кривые для моделей 1, 2 и 3, полученные с помощью методики построения ROC-curved в модуле статистической программы «IBM SPSS Statistics v.21».

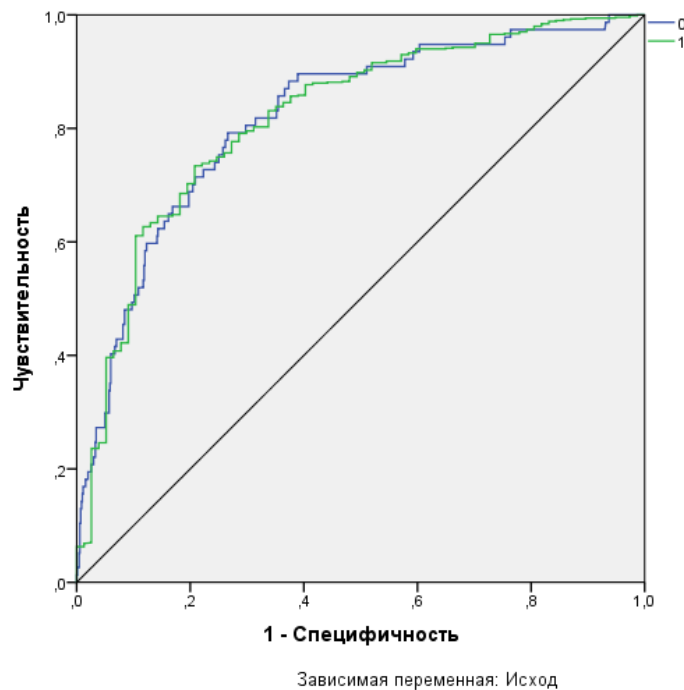


Рисунок 7.2- ROC-кривая, построенная по значениям «ИЛ» в модели 1

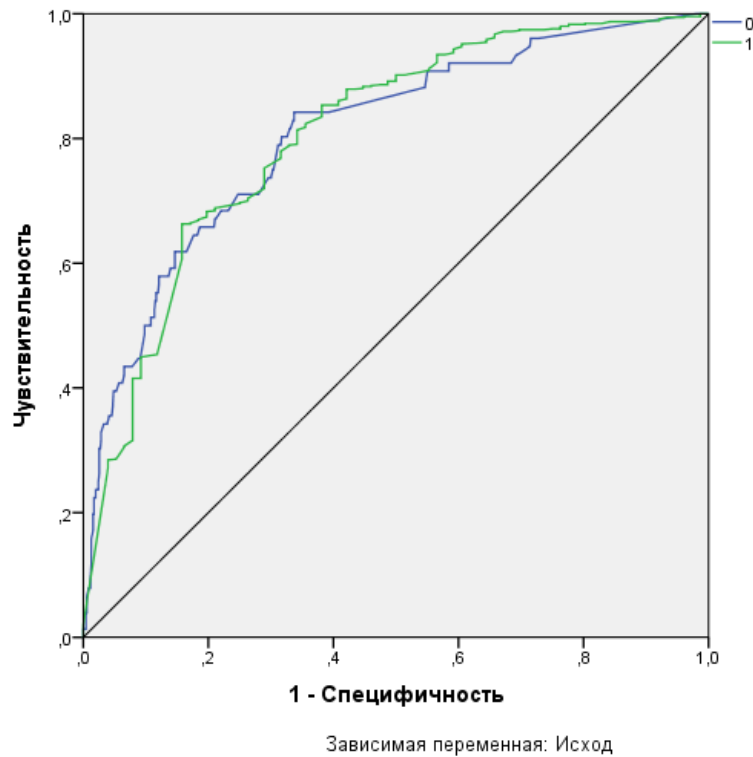


Рисунок 7.3- ROC-кривая, построенная по значениям «ИЛ» в модели 2

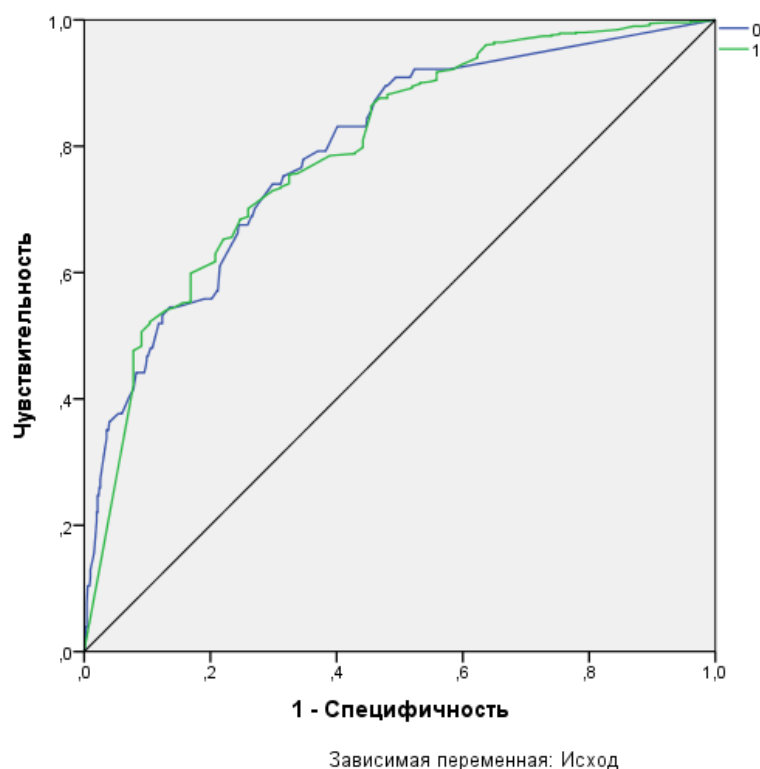


Рисунок 7.4. ROC-кривая, построенная по значениям «ИЛ» в модели 3

Визуальное сравнение ROC-кривых не всегда позволяет выявить наиболее эффективную модель. Обычно сравнение ROC-кривых осуществляется методом расчета площади под кривыми. Теоретически она изменяется от 0 до 1,0, но поскольку модель всегда характеризуется кривой, расположенной выше положительной диагонали, то обычно говорят об изменениях от 0,5 («бесполезный» классификатор) до 1,0 («идеальная» модель). Численный показатель площади под кривой называется AUC (Area Under Curve).

Приблизительная шкала значений AUC (площадь под кривой), отражающая качество диагностического теста или модели, следующая: AUC=0,9-1,0 – отличное качество; AUC=0,8-0,9 – высокое качество; AUC=0,7-0,8 – хорошее качество; AUC=0,6-0,7 – среднее качество; AUC=0,5-0,6 – плохое (неудовлетворительное) качество.

Расчетные значения AUC по каждой модели представлены в Таблице 7.12.

Таблица 7.12- Расчетные значения AUC по каждой модели

Площадь под кривой		Мод. 1	Мод. 2	Мод. 3
Вариант прогноза	Результат «0»	0,819 (0,031) (95%ДИ: 0,732 – 0,892)	0,807 (0,028) (95%ДИ: 0,783 – 0,848)	0,793 (0,047) (95%ДИ: 0,768 – 0,827)
	Результат «1»	0,819 (0,031) (95%ДИ: 0,732 – 0,892)	0,807(0,028) (95%ДИ: 0,783 – 0,848)	0,793 (0,047) (95%ДИ: 0,768 – 0,827)

Наибольшим качеством по площади отличается модель № 1 и 2, которые по значению AUC соответствует показателю «высокое качество». Идеальная модель обладает 100% чувствительностью и специфичностью.

Однако на практике добиться этого невозможно, более того, невозможно одновременно повысить и чувствительность (Se), и специфичность (Sp) модели. Компромисс находится с помощью порога отсечения, т.к. пороговое значение влияет на соотношение Se и Sp. При этом порог принятия-отвержения (порога отсечения) был определен на уровне $h=0,5$.

Согласно полученным данным (Рисунок 7.5) на этом значении h уровень чувствительности (Se) модели 2 составил 98,8% (95%ДИ: 97,9 - 99,5), а специфичности (Sp) – 84,4% (95%ДИ: 75,4- 91,7).

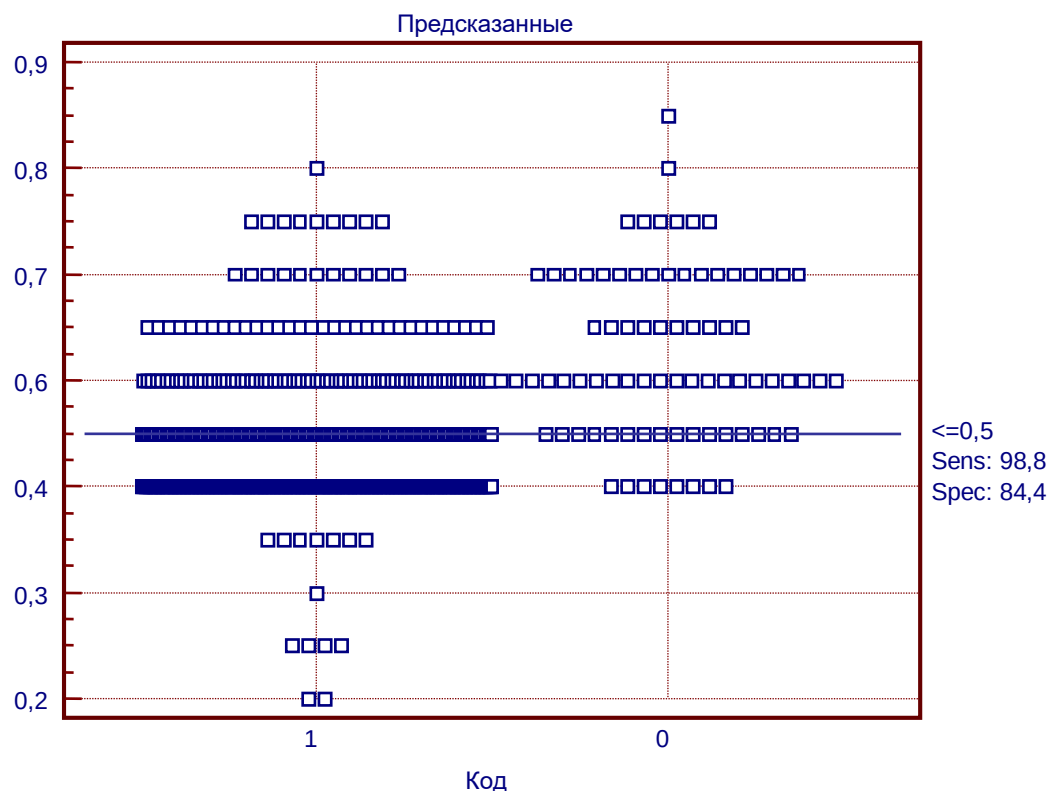


Рисунок 7.5- Результаты прогнозирования «Исход лечения» с помощью логистической многофакторной модели. Светлые квадраты – неблагоприятный исход, инвалидизация, темные – благоприятный исход. Линия проведена на уровне порога принятия-отвержения решения h

Анализ существующих остатков в процессе моделирования для «ИЛ» 2

Корреляционная связь между резидуальными остатками и независимыми факторными признаками отсутствует (коэффициент множественной сериальной корреляции между ними не превышал 0,015). Корреляционная связь между остатками и результирующим признаком также минимальна. Распределение остатков в модели 2 подчиняется нормальному закону распределений случайных величин Гаусса, что видно на Рисунке 7.6. и подтверждается расчетами критерия Шапиро-Уилка, который был больше критического значения 0,935 при $p > 0,1$.

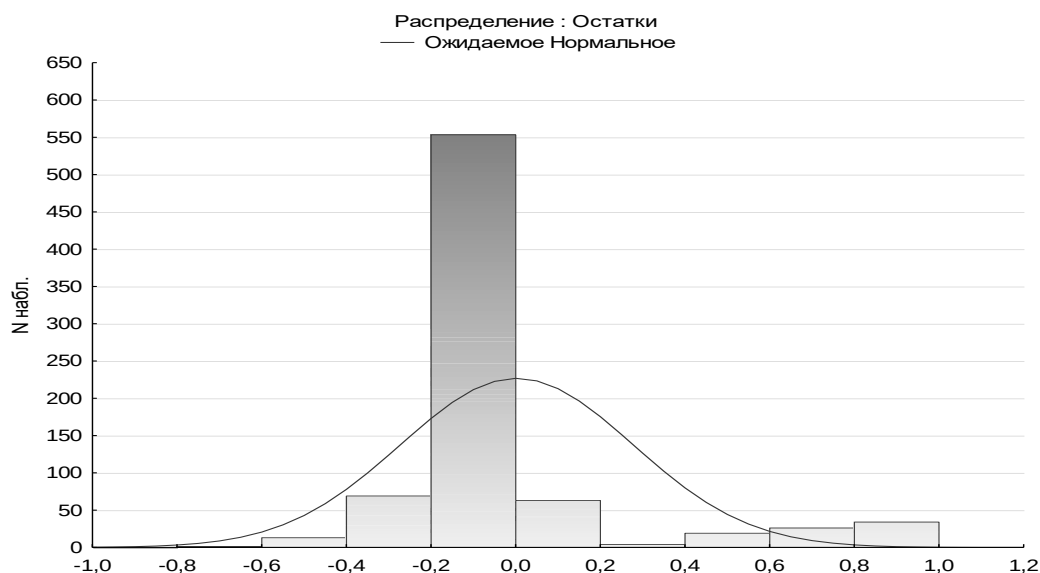


Рисунок 7.6- Распределение остатков при построении модели прогнозирования 2 «Исхода лечения»

Проверка эффективности модели

Процесс верификации модели предполагает также проверку точности прогнозирования зависимого предиктора на контрольном и независимом тестовом множестве. Для оценки эффективности модели из исходного множества данных (782) было случайно выбрано 129 случаев для контрольного множества и 42 случая для тестового множества. В Таблице 7.13 представлены результаты прогнозирования показателя «ИЛ» с использованием логистической модели (5 входных признаков).

Таблица 7.13- Результаты прогнозирования показателя «ИЛ» с использованием логистической модели (5 входных признаков)

Показатели	Контрольное множество		Тестовое множество	
	Благопр. исх	Инвалидизация	Благопр. исх	Инвалидизация
Всего случаев	34	95	22	20
Отнесено при моделировании к благопр. исходу (0)	33	3	21	1
Отнесено при моделировании к неблагопр. исходу (1)	1	92	1	19
Ложноположит. случаи	-	3,2%	-	5,0%
Ложноотрицат.случаи	2,9%	-	4,5%	-

В результате проведенных расчетов с применением регрессионного уравнения модели 2 на контрольном множестве (множество, которое включалось в общую совокупность для расчета разных видов моделей) было отнесено к классу «0» 33 случая из 34 или 97,1%, а к классу «1» – 92 случая из 95 или 96,8%. При этом количество ложноположительных случаев при прогнозировании составило 3,2%, а ложноотрицательных случаев – 2,9%. При выполнении прогнозирования на тестовом множестве были получены следующие показатели: отнесено к классу «0» 21 случай из 22 или 95,5%, а к классу «1» – 19 случаев из 20 или 95,0%. Количество ложноположительных случаев при прогнозировании составило 5,0%, а ложноотрицательных – 4,5%.

При сравнении доли ложноположительных случаев для контрольного и тестового множеств с помощью применения углового преобразования Фишера (с учетом поправки Йейтса) с двусторонней критической областью ($T=0,44$, число степеней свободы $k=54$) статистически значимого отличия не выявлено при $p=0,662$.

При проведении сравнения доли ложноотрицательных случаев для двух множеств с помощью углового преобразования Фишера (с учетом поправки Йейтса) с двусторонней критической областью ($T=0,28$, число степеней свободы $k=113$) статистически значимого отличия также не выявлено при $p=0,780$.

Следовательно, статистически значимых различий между показателями удельного веса ложноположительных и ложноотрицательных случаев на контрольном и тестовом множестве не было выявлено.

На Рисунке 7.7 показан интерфейс предлагаемой к реализации многофакторной логистической модели в виде файла Excel – ИНТЕРФЕЙС_МОДЕЛЬ 2.XLSX.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ "ИСХОД ЛЕЧЕНИЯ"			
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ▼			
Тип СД			
Тяжесть при поступлении			
Количество койко-дней			
Наличие осложнений			
Инсулин			
ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИСХОДА ЛЕЧЕНИЯ:			
- ВЫЗДОРОВЛЕНИЕ, АМБУЛАТОРНОЕ ЛЕЧЕНИЕ	УСЛОВНАЯ ВЕРОЯТНОСТЬ:	29,3	%
- ИНВАЛИДИЗАЦИЯ	УСЛОВНАЯ ВЕРОЯТНОСТЬ:	77,5	%

Рисунок 7.7 - Интерфейс многофакторной логистической модели 2 прогнозирования показателя «Исход лечения», реализованной в табличном процессоре Excel

Выводы:

1. С помощью метода пошагового включения / исключения входных предикторов в многофакторной линейной модели было построено 3 варианта прогнозирования показателя «Исход лечения» по 14, 5 и 3 факторным признакам.
2. Модели оценены на предмет качества прогнозирования, и выбрана модель ИЛ 2, которая была построенная на 5 входных признаках («Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулиноterapia») и обладает наилучшими прогностическими способностями из всех анализируемых моделей.
3. Модель 2 обладает чувствительностью (Se) 98,8%(95%ДИ: 97,9 - 99,5) и специфичностью (Sp) 84,4% (95%ДИ:75,4-91,7).

7.3 Прогнозирование показателя «Степень поражения по Вагнеру»

Решение задачи прогнозирования показателя «Степень поражения по Вагнеру» было осуществлено с помощью построенной математической модели на основе ИНС. Модель строилась на данных 125 исследований, в которых приведены данные о факторах роста, степени поражения конечности по Вагнеру.

В качестве входных предикторов были выбраны 3 независимых пре диктора (TGF-1 β , PDGFBB, VEGF), которые отображали основные показатели факторов роста, и носили количественный характер. В качестве зависимой переменной, то есть критерия прогнозирования или отклика, использовали переменную величину характеризующую степень поражения конечности по Вагнеру, которые принимали значение 1 – «1 степень », 2 – «2 степень », 3 – «3 степень».

После процедуры стандартизации базы данных (удалены пропущенные ячейки, округлены количественные показатели) была подготовлена матрица данных для построения математической модели на основе ИНН, при этом все случаи были разбиты случайным образом на 2 подмножества: обучающее (70% случаев) и контрольное (30% случаев).

При построении модели были использованы стандартные способы нейросетевого моделирования путем создания сети МЛП (Multilayer Perceptron Network – многослойный линейный персептрон), которые позволяют строить высококачественные модели, при этом не учитывая заранее характер ее структуры (характер структуры ИНН определился автоматически с применением стандартного пакета «SPSS Statistics» v.21).

На этом наборе данных (125 случаев) была построена нейросетевая модель для прогнозирования «Степень поражения по Вагнеру» (многослойный персептрон с одним входным слоем, одним скрытым слоем и одним выходным слоем – 5 персептронов).

В Таблице 7.14. приведены данные о нейросетевой модели для прогнозирования «Степень поражения по Вагнеру».

Таблица 7.14- Характеристика модели прогнозирования параметра «Тяжести по Вагнеру» с применением ИНС

Сводка обработки наблюдений		Модель МЛП	
		N	%
Выбор ка	Обучающая	82	96,5
	Контрольная	3	3,5
Валидные случаи		85	68,0
Исключенные случаи		40	32,0
Всего		125	100,0
Ошибки на обучающ. выборке		1	1,2
Процент корректных предсказаний на обучающ. выборке		81	98,8
Ложно+ результат на обучающ. выборке		1	2,6
Ложно– результат на обучающ. выборке		0	0,0
Ошибки на контр. выборке		0	0,0
Процент корректных предсказаний на контр. выборке		3	100
Ложно+ результат на контр. выборке		0	0,0
Ложно– результат на контр. выборке		0	0,0
Чувствительность		81	98,8
Специфичность		3	98,2
Точность		84	98,8
Количество входных факторов		3	100
Входн.слой (кол. персептронов)		200	
Кол-во скрытых слоев		1	
Скрыт. слой (кол. персептронов)		13	
Выход.слой (кол. персептронов)		3	
Функция активации (Скрытый.слой)		Гиперболический тангенс	
Функция активации (Выход.слой)		Softmax	
Функция ошибки		Перекрестная энтропия	

Обучение нейросетевой модели проводилось как пакетное с применением метода градиентного спуска. Для расчета регрессионных коэффициентов применялись градиентные методы: метод сопряженных градиентов и методы переменной метрики.

Анализ данных построенной нейросетевой модели прогнозирования «Степень поражения по Вагнеру» показал, что нейросетевая модель, которая была построена на 3 входных факторах (TGF-1 β , PDGF-BB и VEGF) обладает высокой надежностью. Об этом говорит достаточно высокий процент корректных

предсказаний на обучающей выборке (98,8%), высокий процент корректных предсказаний на контрольной выборке (100%), отсутствие ошибок на контрольной выборке (по 0,0%), отсутствие ложноположительных и ложноотрицательных случаев прогнозирования на контрольной выборке (0,0%). Данная модель позволяют с большой вероятностью предсказывать значения результирующего предиктора «Степень поражения по Вагнеру». Архитектура ИНС в модели представлена на Рисунке 7.8.

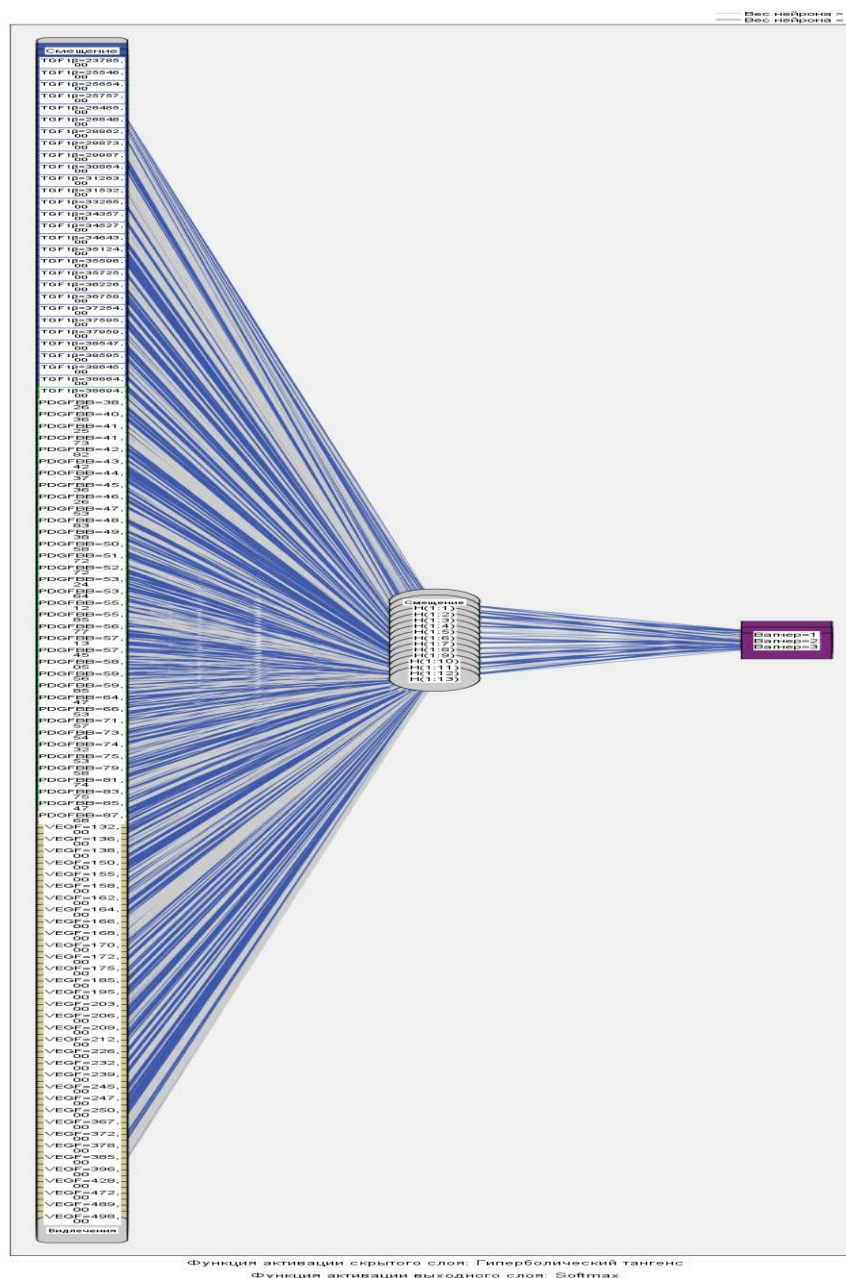


Рисунок 7.8- Архитектура нейросетевой математической модели по прогнозированию показателя «Степень поражения по Вагнеру»

Нейросетевая модель показала при прогнозировании зависимого предиктора «Степень поражения по Вагнеру» достаточно высокую чувствительность (98,8%) и специфичность (100%). Так, процент корректных предсказаний прогнозируемого фактора «Степень поражения по Вагнеру» на контрольной выборке (100%) указывает на высокую точность предсказаний (98,8%).

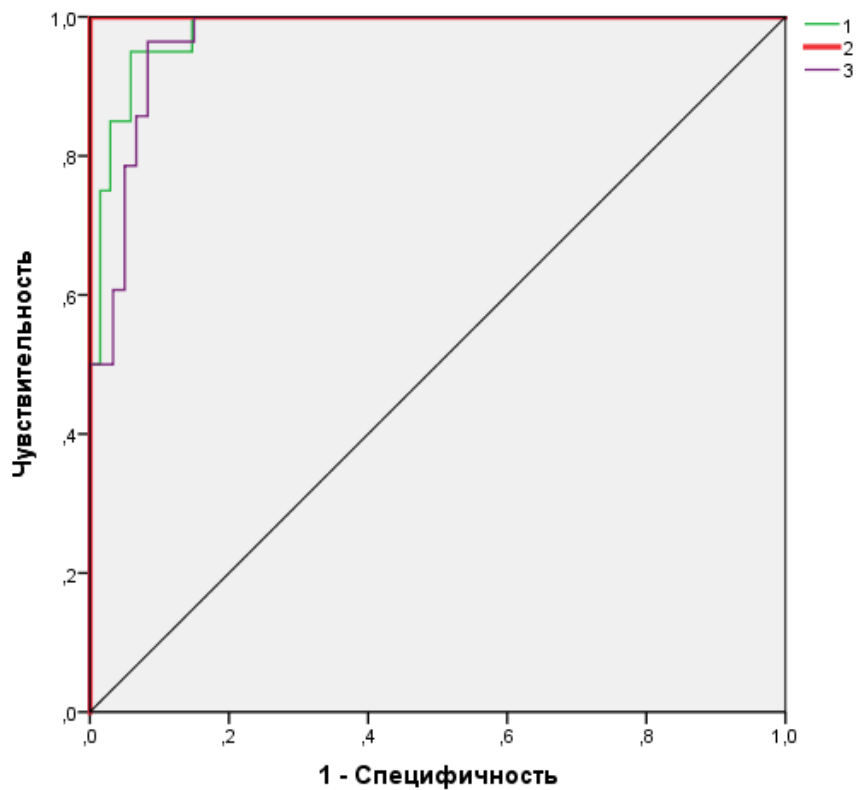
При анализе влияния (важности) отмеченных входных факторов на прогнозирование исхода в Таблице 7.15 приведены значения нормализованной важности (в %) входных переменных в рамках модели. Ранжирование нормализованной важности независимых переменных проводилось путем ранжирования ошибок моделирования при замене каждой из ранжируемых переменных на ее среднее по обучающему множеству значение. Чем больше увеличивается, в этом случае, ошибка по сравнению с полной моделью, тем большая важность указанной переменной. В таблице наиболее значимой переменной для соответствующей модели соответствует 100%, а наименьшей – 0% и т.д. Кроме этого, для сравнения в таблице приведен процент встречаемости фактора при наличии влияния его на показатель «Степень поражения по Вагнеру», рассчитанной по данным литературных источников.

Таблица 7.15- Результаты анализа нормализованной важности входных переменных

Наименование переменной	Показатели нормализованной важности
	Модель МЛП
TGF-1 β	81,4%
PDGFBB	98,2%
VEGF	89,7%

Хотелось бы обратить внимание на высокую важность входных признаков «PDGFBB», которая имеет самое высокое значение в 98,2%. Этот же признак влияния на риск возникновения более тяжелой степени «Тяжесть по Вагнеру», что косвенно подтверждает статистическую значимость факторных переменных при прогнозировании исходного показателя «Тяжесть по Вагнеру».

Ниже, на Рисунке 7.9, представлена ROC-кривая для моделей МЛП, полученная с помощью методики построения ROC-curved в модуле статистической программы «IBM SPSS Statistics v.21».



Зависимая переменная: Степень по Вагнеру

Рисунок 7.9-ROC-кривая для моделей МЛП

Расчетные значения AUC по модели МЛП для каждой прогнозируемой степени представлено ниже в Таблице 7.16.

Таблица 7.16- Расчетные значения AUC по каждой прогнозируемой степени в модели МЛП

Площадь под кривой		
Вариант прогноза	Степень «1»	0,983± 0,01 (95%ДИ: 0,963 – 1,0)
	Степень «2»	1,0 ± 0,02 (95%ДИ: 0,985 – 1,0)
	Степень «3»	0,968± 0,03 (95%ДИ: 0,908 – 1,0)

Среднее расчетное обобщенное значение AUC по модели МЛП составило $0,984 \pm 0,02$ (95%ДИ: $0,952-1,0$), что соответствует отличному качеству модели. Таким образом, нейросетевая модель показала при прогнозировании зависимого предиктора «Степень поражения по Вагнеру» достаточно высокую чувствительность (98,8%) и специфичность (98,2%).

7.4 Прогнозирование вероятности заживления диабетических язв в зависимости от методов физического воздействия у больных с СДС

Модель Кокса (Cox Proportional Hazards Model), часто называемая в литературе «Пропорциональная модель Кокса». Данная модель является часто применяемым в современных научных публикациях и рекомендуемым инструментом для анализа данных по наступлению какого-либо временного исхода (выздоровления, заживления язвы или раны, появления осложнений, летального исхода и т.д.). Ее основу составляет метод множественной регрессии, и в качестве выходного предиктора модель прогнозирует значение отношения шансов или рисков и его доверительный интервал.

Отношение рисков (hazard ratio, HR) – это оценка отношения интенсивностей (показателей, уровней, функции) риска в экспериментальных группах и группе сравнения или контроля, рассчитанных для любого временного момента наблюдения. Модель показывает, что отношение рисков у членов экспериментальных групп остается неизменными в течение всего периода наблюдения. Интенсивность риска представляет собой вероятность того, что событие, не произошедшее к определенному времени, случится в следующий интервал времени, отнесённую к продолжительности этого интервала. Временной интервал может быть установлен длинным или достаточно коротким, поэтому и оценку можно сделать для любого момента. Другими словами, если регрессию Кокса применить к клиническому испытанию, в котором ожидаемым результатом является, например заживление язвы и выздоровление пациента, отношение рисков (шансов) отражает относительную вероятность быстреего

выздоровления у больных, получающих специфическое лечение, по отношению к пациентам контрольной группы или групп сравнения для любого момента.

Данная модель позволяет включать в исследование всех интересующих нас пациентов, невзирая на цензурирование (частичную неполноту данных), поскольку модель использует базисное допущение того, что выбывание пациентов может происходить случайным образом и с одинаковой вероятностью как в изучаемой, так и в контрольной группе. Только в регрессии Кокса мы можем оценить влияние множества предикторов на исход с учетом периода наблюдения до выздоровления.

Сразу необходимо отметить: несмотря на то что отношение рисков (HR) может быть применено к любому моменту периода наблюдения, сам по себе этот показатель не дает непосредственного представления о времени до события. Отношение рисков может показывать наличие положительного эффекта от применения метода в клиническом испытании (когда HR достоверно превышает 1), что действительно предполагает сокращение времени до выздоровления.

Соотношение шансов (Odds Ratio, OR) – это отношение шанса наступления исхода в группе с применяемой медицинской технологией (воздействия данного фактора) к шансу наступления исхода в других группах, в которых применяется другая технология. В этом случае под шансом подразумевается отношение числа испытаний, в результате которых исход наступил, к числу испытаний, в результате которых исход не наблюдался. Для удобства перед определением показателей относительного риска и соотношения шансов составляют таблицу сопряженности, в которой отражаются все возможные исходы исследования по изучению данной медицинской технологии.

В исследование для построения регрессии Кокса были включены 125 пациентов в возрасте от 18 до 80 лет, госпитализированных и пролеченных в стационаре по поводу язвенных поражений стопы при сахарном диабете 2 типа, разделенных на 4 опытные группы в зависимости от применяемых методик

лечения. В качестве входных параметров были выбраны следующие параметры: факторы роста TGF-1 β , PDGFBB и VEGF. За период 60 дней была оценена частота возникновения комбинированной конечной точки (ККТ), которая характеризует время наступления выздоровления (заживление язв на стопе).

В зависимости от выбора методов лечения исследуемые больные были выделены в 4 группы: 1-я группа с применением VAC-терапии (35 больных); 2-я группа (31 больной) – с применением УЗ-кавитации; 3-я группа (31 больной) – с озоно- и лазеротерапии и 4-я группа (28 больных) с традиционным консервативным лечением без применения методов физического воздействия на раневой процесс. В Таблице 7.17 указана обработка наблюдений при подготовке к анализу с применением регрессионной модели Кокса.

Таблица 7.17- Сводка обработки наблюдений

		N	Процент
Наблюдения, доступные в анализе	Событие ^a	125	73,6%
	Цензурированные	0	0,0%
	Итого	125	100,0%
Опущенные наблюдения	Наблюдения с пропущенными значениями	0	0,0%
	Наблюдения с отрицательным временем	0	0,0%
	Наблюдения, цензурированные до наступления первого события в страте	0	0,0%
	Итого	0	0,0%
Итого		125	100,0%

Примечание: ^a - Зависимая переменная: Длительность процесса заживления

Результаты расчета базовых значений модели показали, что показатель – 2Log правдоподобия (-2LL) для базовой модели без предикторов составил 641,829. Значение этого показателя для модели с предикторами было значимо

ниже ($-2LL=632,833$, $X^2=8,995$, $p<0,029$), то есть предложенная модель обладает большей предсказательной способностью по сравнению с базовой (Таблица 7.18).

Таблица 7.18-Объединенные тесты коэффициентов базовой регрессионной модели Кокса

-2 Log Правдопод обия	Общий (балл)			Отличие от предыдущего шага			Отличие от предыдущего блока		
	Хи- Квадра т	ст.св.	Знч.	Хи- Квадр ат	ст.с в.	Знч.	Хи- Квадра т	ст.св.	Знч.
632,833	8,719	3	,033	8,995	3	,029	8,995	3	,029

Для построения модели необходимо выбрать метод введения предикторов в модель. Можно использовать метод форсированного ввода, «Enter» (все переменные одновременно вводятся в модель), метод последовательного ввода «Forward» и метод последовательного исключения переменных «Backward». При использовании двух последних пошаговых методов мы выбираем только ограниченный ряд независимых переменных. Затем программа определяет порядок включения их в модель на основании предсказательной способности предикторов (наиболее значимо коррелирующий признак вводится первым). Включение предикторов в модель заканчивается, когда при добавлении очередного из них предсказательная способность модели статистически значимо не улучшается. Метод пошагового исключения «Backward» является противоположностью описанного метода. В нашем случае был применен метод ввода предикторов TGF- 1β , PDGFBB и VEGF в модель в виде принудительного форсированного включения «Enter».

Отношение между риском (шансом) наступления события и независимыми переменными выражается математической формулой:

$$h(T) = h_0(T) e^{\sum_{i=1}^p x_i \beta_i}$$

где

T – время; $x_1, \dots, x_p$ — независимые переменные (предикторы). $h_0(T)$ – основной риск (шанс) наступления события (baseline hazard rate), одинаковый для всех объектов наблюдения (при условии, что значения всех независимых переменных равны 0, то есть они никоим образом не влияют на исход); $\beta_1, \dots, \beta_p$ – регрессионные коэффициенты (regression coefficients), которые указывают на влияние каждого предиктора на функцию риска (шанса), и при увеличении значения предиктора на единицу, если значения остальных переменных неизменны, риск (шанс) наступления события возрастает в $\exp(e)$ раз.

Результаты расчетов коэффициентов модели, шанс (риск) наступления события ККТ представлены в Таблице 7.19.

Таблица 7.19- Результаты множественного регрессионного анализа Кокса для оценки факторов риска развития комбинированной конечной точки (заживления язв) у пациентов в исследуемых группах

Предиктор	В	Стд.Ош- ка (SE)	Вальд (Wald)	ст.сво б. (df)	р	Exp(B)	95,0% CI для Exp(B)	
							Нижн яя	Верхн яя
TGF-1 β	0,001	0,0001	2,292	1	0,130	1,000	1,000	1,000
PDGFBB	0,035	0,013	7,751	1	0,005	1,036	1,011	1,062
VEGF	0,001	0,0002	0,028	1	0,867	1,000	0,995	1,004

В регрессии Кокса (как и в логистической регрессии) нулевая гипотеза проверяется при помощи критерия Вальда (Wald) (предиктор не имеет связи с зависимой переменной, т.е. его регрессионный коэффициент значимо не отличается от нуля). Если регрессионный коэффициент значимо отличается от нуля, то независимая переменная вносит значимый вклад в предсказательную способность модели.

В таблице представлены коэффициенты модели В, стандартная ошибка коэффициента SE, критерий Вальда (Wald), критерий значимости коэффициента В для соответствующей независимой переменной, который зависит от значения

критерия и числа степеней свободы (df)); статистическая значимость критерия Вальда (при значениях $p < 0,05$ независимая переменная вносит значимый вклад в предсказательную способность модели); $\text{Exp}(B)$ – экспонента B , который отражает отношение рисков и показывает, во сколько раз изменяются шансы достичь благополучного исхода, если значение предиктора изменяется на единицу. Если значение $\text{Exp}(B)$ или отношения шансов (рисков) больше единицы, то положительное значение данного предиктора будет являться фактором, связанным с шансом благополучного развития исхода, если меньше единицы – то будет ассоциировано с увеличением времени наступления ККТ (то есть выступать защитным фактором относительно исхода).

Границы 95% ДИ (95,0% CI for $\text{Exp}(B)$) отражают, в каких пределах с вероятностью 95% находится значение этого коэффициента для популяции, из которой была сформирована изучаемая выборка. Чем шире будут границы интервала $\text{Exp}(B)$, тем менее точно значение коэффициента B отражает его значение переменной для генеральной совокупности, и наоборот. Фактором, имеющим независимое влияние на шансы достижения ККТ в исследуемых группах согласно таблице 3, является предиктор PDGFBB, у которого уровень значимости 0,005 при величине критерия Вальда – 7,751. Для других предикторов TGF- 1β и VEGF уровень значимости и величина критерия Вальда не приводят к повышению шансов благополучного исхода лечения или снижению риска увеличения времени наступления ККТ.

Итоговое математическое выражение для расчета шансов (рисков) наступления благополучного исхода будет выглядеть следующим образом: $H(T) = h_0 * \exp(0,001 * \text{TGF-}1\beta + 0,035 * \text{PDGFBB} + 0,001 * \text{VEGF} + A_{se})$, где $H(T)$ – шансы (риск) для пациента во время t ; h_0 – базовый (априорный) шанс (риск); A_{se} – обобщенная стандартная ошибка коэфф. B .

В случае с фактором PDGFBB наиболее корректной интерпретацией $\text{Exp}(B)$ или $\text{HR}=1,036$ является тот факт, что пациент, принимающий лечение с применением метода VAC-терапии и у которого выздоровление еще не наступило до какого-то момента, имеет в 1,036 раза больший шанс выздороветь к

следующему моменту, чем тот, кто получал другой метод лечения. Вероятность того, что событие наступит раньше, может быть рассчитана из показателя HR по формуле: $p = HR / (1 + HR)$. Таким образом, $HR = 1,036$ соответствует 51% шансу более раннего наступления события (заживление язв на стопе) у пациента, получавшего препарат, чем у того, который получал другое или традиционное лечение. Можно предложить и другой вариант интерпретации для HR фактора PDGFBB: при увеличении (уменьшении) значения фактора на десять единиц шанс развития (риск недостижения выздоровления) благоприятного исхода увеличивается (уменьшается) в $1,036^{10}$ (1,42) раз или на 42%.

Для проверки условия, что все предикторы тесно не коррелируют друг с другом (условие отсутствия коллинеарности), построим корреляционную матрицу. Корреляции между регрессионными коэффициентами переменными представлены в Таблице 7.20.

Таблица 7.20- Корреляционная матрица регрессионных коэффициентов

	TGF-1 β	PDGFBB
PDGFBB	-0,474	
VEGF	-0,009	-0,366

Согласно корреляционному матриксу выявлены корреляции очень слабой (до 0,2) и слабой (0,2-0,5) силы, что не мешает применению модели. Только сильные корреляционные связи ($>0,7$ или $>0,9$ по данным различных источников) могут повлиять на результаты анализа.

На Рисунке 7.10 представлены кривые вероятности наступления исхода лечения (для построения применялся метод Каплана-Мейера) в 4-х группах больных в зависимости от варианта лечебного воздействия. Следует отметить, что данная категория больных включает в себя пациентов из разных групп, у которых был зафиксирован благополучный исход в разные временные промежутки лечения. На графиках кумулятивной вероятности наступления изучаемого исхода построены четыре кривые согласно виду принимаемого лечения. Визуально можно отметить, что прогноз более благоприятный наблюдался у пациентов в 1-

ой группе, тогда как, у пациентов 2-й и 3-й групп прогноз менее благопопирятный и практически не отличается в этих группах, а в 4 группе прогноз еще менее благоприятен, чем в 2-й и 3-й группах.

Согласно Рисунку 7.10, где представлены графики функции вероятности достижения ККТ у больных разных групп, можно отметить, что в 1-й группе среднее время возникновения ККТ у больных (с VAC-терапией) составило не более 20-22 дней (медиана достижения), что было ниже в 1,75 раза, чем во 2-й или 3-й групп больных, где среднее время выживания составляло 36-38 дней.

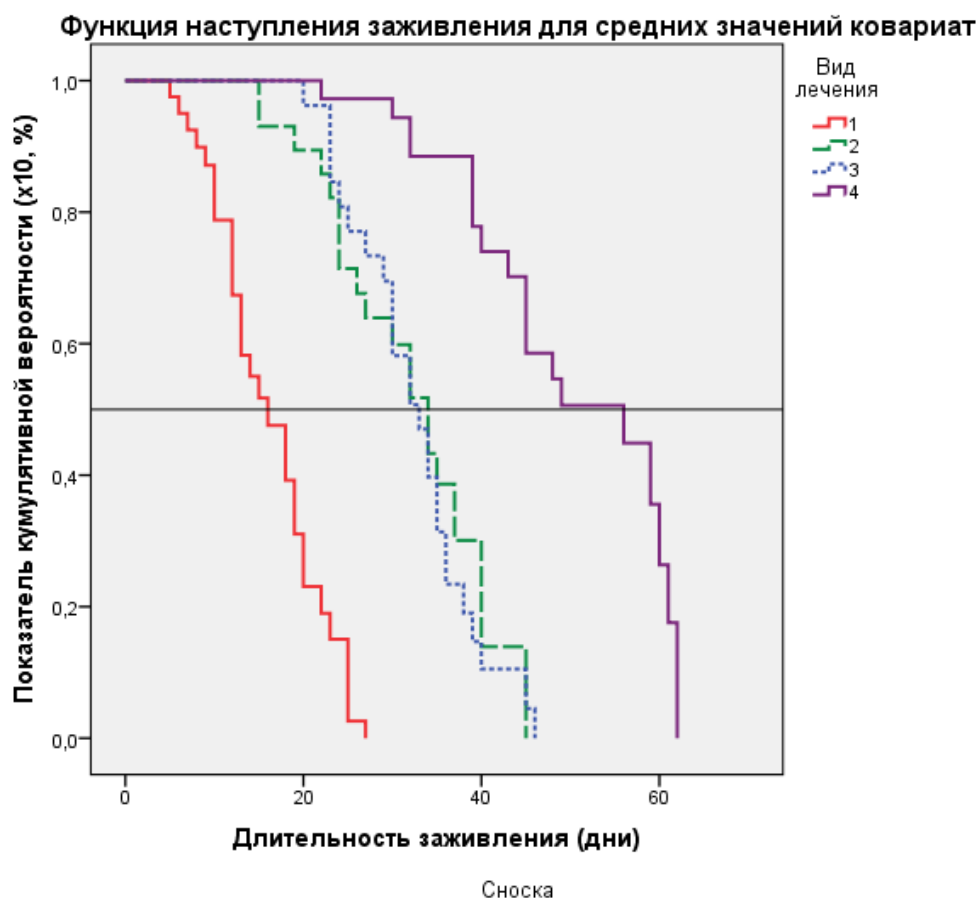


Рисунок 7.10- График кумулятивной вероятности, что ККТ случится в течение периода наблюдения в зависимости от вида лечения

Согласно проведенному анализу кумулятивной вероятности у больных 1-й группы медиана наступления ККТ (заживления язвенного дефекта конечности у 50% наблюдаемых в группе пациентов) была достигнута на протяжении 19 (ДИ:15 - 22) дней, а в группе 2 и 3 медиана наступления ККТ составила 31(95%ДИ:25 -

35) день и 35(95%ДИ:32 - 39) дней соответственно. В 4-й группе медиана наступления ККТ составила 56 (95%ДИ:49 - 59) дней.

При проведении парного сравнения с применением критерия сравнения Гехана-Вилкоксона ($\chi^2=6,694$; $p=0,007$) были выявлены достоверные статистические различия по показателям возникновения ККТ в 1-й и 4-й группах ($p < 0,05$).

При проведении попарного сравнения показателей медианы наступления благоприятного исхода в разных группах с применением критерия сравнения Гехана-Вилкоксона ($\chi^2=0,442$; $p=0,506$) достоверных различий между 2-й и 3-й группами не было выявлено. По всем тестам сравнения рисков Log Rank ($\chi^2=8,714$; $p=0,01$), Breslow ($\chi^2=8,694$; $p=0,007$) и Tarone-Ware ($\chi^2=8,694$; $p=0,008$) были выявлены статистически значимые различия по показателям медианы наступления благоприятного исхода между 1-й группой и 4-й группой с традиционными методами лечения.

Значимую диагностическую ценность для анализа условия пропорциональности рисков представляет график значений остатков, отложенный относительно времени (Hosmer и Lemeshow (1999)) [**Error! Reference source not found.**]. Если условие пропорциональности соблюдается, то остатки будут распределены случайным образом вокруг горизонтальной линии относительно нуля, если не соблюдается, то в их расположении будет прослеживаться какой-либо тренд. Частичные остатки рассчитаны для значимых переменных. Мы видим (Рисунок 7.11), что для значимой переменной «PDGFBB» остатки показателя, не вошедшие в построение модели, распределены равномерно относительно нулевой линии.

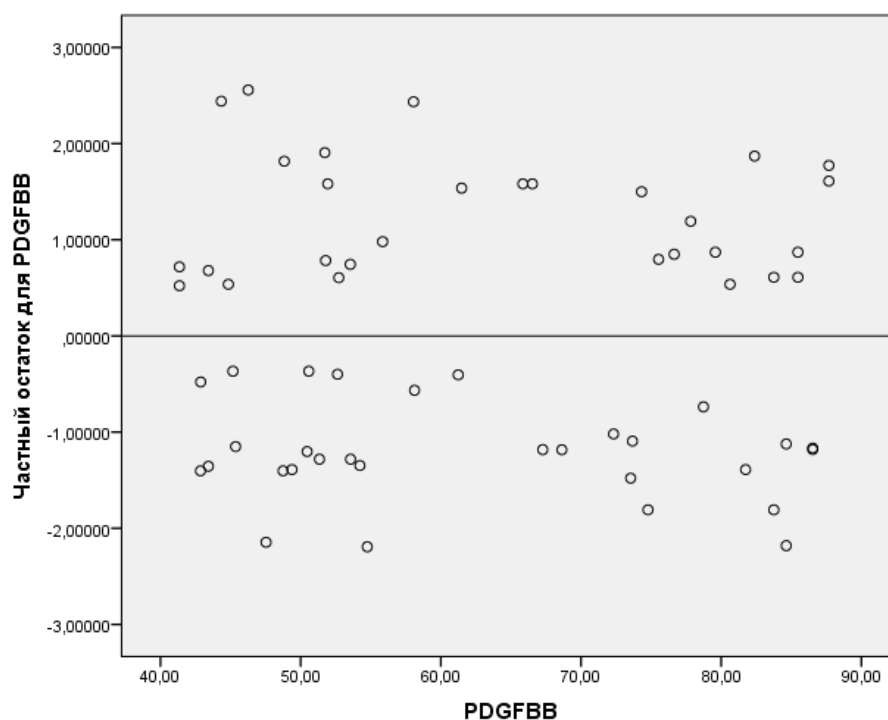


Рисунок 7.11- Скатерограмма распределения частичных остатков для значимой переменной «PDGFBB» относительно всего периода наблюдения за группами пациентов

Таким образом, применение модели пропорциональных интенсивностей Кокса и построение кривых кумулятивной вероятности наступления исхода лечения (по методу Каплана-Мейера) позволили определить и сравнить вероятность наступления исхода лечения по предлагаемому клиническому методу VAC-терапии в сравнении с другими методами лечения. Так, вероятность заживления язвенного дефекта конечности у 50% наблюдаемых у больных 1-й группы была достигнута на протяжении 19 (ДИ:15 - 22) дней, а в группе 2 и 3 медиана наступления ККТ составила 31(95%ДИ:25 - 35) день и 35(95%ДИ:32 - 39) дней, соответственно. В 4-й группе вероятность заживления язвенного дефекта конечности у 50% наблюдаемых больных составляет 56(95%ДИ:49 - 59) дней. Фактором, имеющим независимое влияние на шансы достижения ККТ в исследуемых группах, является уровень показателя PDGFBB (критерий Вальда – 7,751 при $p=0,005$). Для других предикторов TGF- 1β и VEGF изменение уровня показателей не приводит к повышению шансов благополучного исхода лечения или снижению риска увеличения времени заживления язвенного дефекта.

ГЛАВА 8.РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕБНОЙ ТАКТИКИ С УЧЕТОМ ПРОГНОЗА ИСХОДА ЛЕЧЕНИЯ И ОЦЕНКА ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ С СДС

Оптимальным подходом к лечению больных с язвенно-некротическим поражением нижних конечностей является окончательная ликвидация всех имеющихся повреждений. Однако у ряда больных тяжесть состояния, длительность заболевания могут превысить функциональные возможности организма. Кроме того, окончательное восстановление раневой поверхности на операционном столе могут привести к развитию тяжелых послеоперационных осложнений как в ближайшем, так и в отдаленном послеоперационном периоде.

В случае нейропатической формы СДС (чаще всего с I-II стадиями) проводилось консервативное лечение с обязательной разгрузкой конечности. При наличии инфицированных язв назначалась антибиотикотерапия с учетом чувствительности к микроорганизмам. Предпочтение отдавалось назначению полусинтетических пенициллинов, цефалоспоринов 3-4 поколений, фторхинолонов. Проводили поэтапную хирургическую обработку язвы и прилегающих к ней трофически измененных тканей. Обязательным при этом являлось удаление нежизнеспособных тканей и гиперкератозов острым скальпелем с последующей обработкой раны растворами антисептиков. После оперативного вмешательства применялись повязки, препараты, стимулирующие регенераторные процессы в ране в зависимости от стадии развития раневого процесса. После хирургической обработки гнойно-некротического очага применялся тот или иной вид пластической операции. Обязательно проводили разгрузку стопы с применением иммобилизирующей разгрузочной повязки.

После проведения курса лечения наблюдали позитивные изменения клинических показателей: уменьшение выраженности болевого синдрома, улучшение сна, отказ от наркотических и ненаркотических анальгетиков,

тенденция к заживлению трофических язв, повышение плече-лодыжечного коэффициента.

У пациентов со смешанной формой диабетической стопы проводили комплексное лечение, направленное на оба патологических звена. Таким образом, с учетом данных собственных исследований наиболее благоприятный результат хирургического лечения СДС отмечен у больных с нейропатически инфицированной формой поражения, поскольку у них сохранены регионарный кровоток и адекватная трофика мягких тканей стопы. Несколько худший результат наблюдали при лечении больных со смешанной формой поражения, что обусловлено наличием диабетической ангиопатии и ухудшением обменных процессов в тканях стопы. Наиболее неблагоприятный результат был отмечен у больных с ишемической формой поражения, что объясняется выраженными расстройствами регионарного кровообращения и ишемией тканей стопы. В этой группе больных выполнялся наибольший процент высоких ампутаций нижних конечностей. Применяли антибиотики широкого спектра действия (меронем, цефепим). Параллельно проводили коррекцию уровня гликемии, дезагрегантную, нейротропную (Диалипон или Берлитион) в дозе 900-1200 мг/сутки и антикоагулянтную терапию. У больных операции на сосудах (стентирование, шунтирование сосудов и т.д.) выполнялись по показаниям и своевременно.

Количество оперированных больных по группам распределилось следующим образом. В исследуемых группах больных наблюдается существенная разница. В первой группе пациентов оперативное лечение выполнялось в два этапа, оперировано было 100% больных. Первым этапом выполнялась первичная/вторичная хирургическая обработка раны с наложением аппарата VAC-дренирования. На втором этапе VAC-аппарат снимался, выполнялся один из видов пластик для закрытия раны. Во второй группе также было оперировано 100% пациентов, первичная/вторичная обработка раны дополнялась ультразвуковой кавитацией, после чего предпринималась попытка закрытия раны. В третьей и четвертой группах большая часть пациентов, $78,0 \pm 2,1\%$ и $87,7 \pm 2,1\%$ соответственно, были оперированы. Консервативно было пролечено $22,0 \pm 2,6\%$

больных в третьей группе и $12,3 \pm 2,1\%$ в четвертой группе больных. Структура оперативных вмешательств в 1-й и во 2-й группе представлена в Таблицах 8.1, 8.2. Таблица 8.1- Структура оперативных вмешательств в первой группе больных (абс. /%, $P \pm m$)

Оперативное пособие	Количество, n=134
Оперативное лечение на первом этапе	
Первичная хирургическая обработка раны + VAC - дренирование	134/100
Оперативное лечение на втором этапе	
Демонтаж VAC -аппарата + пластика свободным расщепленным лоскутом	36 / $26,9 \pm 3,8$ (95%ДИ:60,5- 88,9)
Демонтаж VAC -аппарата + пластика местными тканями	35 / $26,1 \pm 3,8$ (95%ДИ:59,8-88,8)
Демонтаж VAC -аппарата + комбинированная пластика	18 / $13,4 \pm 2,9$ (95%ДИ:54,3-94,6)
Оперативное лечение по системе «damage control surgery»	
Вторичная хирургическая обработка раны + наложение вторичных швов	16 / $11,9 \pm 2,8$ (95%ДИ:46-91,5)
Вторичная хирургическая обработка раны + повторная пластика	9 / $6,7 \pm 2,2$ (95%ДИ:45,9-102,9)
Этапные пластики расщепленным лоскутом	20 / $14,9 \pm 3,1$ (95%ДИ:55,4-93,6)

Таблица 8.2. Структура оперативных вмешательств во второй группе больных (абс. /%, $P \pm m$)

Оперативное пособие	Количество, n=142
Оперативное лечение в один этап	
Первичная хирургическая обработка раны + УЗ-кавитация + пластика местными тканями	34 / $23,9 \pm 3,6$ (95%ДИ:54,9-85,7)
Первичная хирургическая обработка раны + УЗ-кавитация + пластика расщепленным лоскутом	43 / $30,3 \pm 3,8$ (95%ДИ:56,8-84,1)
Первичная хирургическая обработка раны + УЗ-кавитация + комбинированная пластика	28 / $19,7 \pm 3,3$ (95%ДИ:53,4-87,3)
Первичная хирургическая обработка раны + УЗ-кавитация + пластика лоскутом с осевым кровоснабжением	9 / $6,3 \pm 2,0$ (95%ДИ:40,1-99,9)
Оперативное лечение по системе «damage control surgery»	
Вторичная хирургическая обработка раны + наложение вторичных швов	5 / $3,5 \pm 1,5$ (95%ДИ:29,8-110,2)

Продолжение Таблицы 8.2	
Вторичная хирургическая обработка раны + повторная пластика	5 / 3,5±1,5 (95%ДИ:29,8-110,2)
Этапные пластики расщепленным лоскутом	18 / 12,7±2,8 (95%ДИ:49,5-91,6)

В третьей и четвертой группах больных не все пациенты были оперированы: в третьей группе было прооперировано 198 больных (78,0± 2,1%), в четвертой – 221 человек (87,7± 2,1%). Структура выполненных оперативных пособий в этих группах не отличалась, данные приведены в Таблице 8.3

Таблица 8.3- Структура оперативных вмешательств по группам сравнения (абс. /%, $P \pm m$)

Операция	Третья группа, n=198	Четвертая группа, n=221
Первичная хирургическая обработка раны + пластика местными тканями	37 / 18,7±2,8 (95%ДИ:34,4-66,7)	39 / 17,6±2,6 (95%ДИ:29,5-60,7)
Первичная хирургическая обработка раны + комбинированная пластика	28 / 14,1±2,5 (95%ДИ:31,8-68,9)	37 / 16,7±2,5 (95%ДИ:29,1-61,2)
Первичная хирургическая обработка раны + пластика расщепленным лоскутом	26 / 13,1±3,4 (95%ДИ:31,2-69,6)	34 / 15,4±2,4 (95%ДИ:28,6-62)
Некрэктомия + комбинированная пластика	20 / 10,1±2,1 (95%ДИ:28,6-72,4)	24 / 10,8±2,1 (95%ДИ:25,1-64,9)
Некрэктомия + пластика местными тканями	22 / 11,1±2,2 (95%ДИ:29,6-71,3)	28 / 12,7±2,2 (95%ДИ:26,9-63,8)

Продолжение Таблицы 8.3		
Ампутации конечностей и сегментов	6 / 3,0±1,2 (95%ДИ:10-90)	10 / 4,5±1,4 (95%ДИ:14,2-75,8)
Вторичная хирургическая обработка раны + пластика местными тканями	14 / 7,1±1,8 (95%ДИ:24,5-76,9)	14 / 6,3±1,6 (95%ДИ:18,9-71,1)
Вторичная хирургическая обработка раны + комбинированная пластика	12 / 6,1±1,7 (95%ДИ:22,5-79,1)	9 / 4,1±1,3 (95%ДИ:13-78,1)
Вторичная хирургическая обработка раны + пластика расщепленным лоскутом	7 / 3,5±1,3 (95%ДИ:13-87)	6 / 2,7±1,1 (95%ДИ:5,2-84,8)
Оперативное лечение по системе «damage control surgery»		
Вторичная хирургическая обработка раны + наложение вторичных швов	5 / 2,5±1,1 (95%ДИ:6,2-93,8)	4 / 1,8±1,0 (95%ДИ:-3,8-93,8)
Вторичная хирургическая обработка раны + повторная пластика	6 / 3,0±1,2 (95%ДИ:10-90)	6 / 2,7±1,1 (95%ДИ:5,2-84,8)
Этапные пластики расщепленным лоскутом	20 / 10,1±2,1 (95%ДИ:28,1-71,9)	10 / 4,5±1,4 (95%ДИ:14,2-75,8)

Всего было зафиксировано 212 (32,7±1,7%) осложнений в послеоперационном периоде. По группам больных осложнения распределились следующим образом, данные приведены в Таблице 8.4.

Таблица 8.4- Распределение больных по количеству осложнений (абс./ %, $P \pm m$)

Группы больных	Осложнения
Первая группа (n=134)	13 / 9,7 $\pm$ 2,6 (95%ДИ:4,7- 14,7)
Вторая группа (n=142)	17 / 12,0 $\pm$ 2,7 (95%ДИ:6,6-17,3)
Третья группа (n=254)	87 / 34,2 $\pm$ 2,0 (95%ДИ:28,4-40,1)
Четвертая группа (n=252)	95 / 37,7 $\pm$ 3,0 (95%ДИ:31,7- 43,7)
Всего (n=782)	212 / 27,1 $\pm$ 2,6 (95%ДИ:24,0- 30,2)

Таким образом, при анализе таблицы, можно сделать вывод о том, что в первой группе больных было зафиксировано 13 (9,7 $\pm$ 2,6%) осложнений в послеоперационном периоде, во второй группе больных – 17 (12,0 $\pm$ 2,7%) осложнений, в третьей группе больных – 87 (34,2 $\pm$ 2,0%) осложнений, в контрольной группе пациентов 95 осложнений (37,7 $\pm$ 3,0%). Эти данные свидетельствуют, что применение высокотехнологического оборудования ведет к существенному сокращению количества осложнений в послеоперационном периоде при лечении синдрома диабетической стопы. Подробные данные об осложнениях приведены в Таблице 8.5.

Таблица 8.5- Структура осложнений по группам сравнения (абс./%. / $P \pm m$)

Осложнение	Первая группа, n=134	Вторая группа, n=142	Третья группа, n=254	Четвертая группа, n=252
Пневмония	2 / 1,4 $\pm$ 1,1	3 / 2,1 $\pm$ 1,2	12 / 4,7 $\pm$ 1,3	16 / 6,3 $\pm$ 1,5

Продолжение Таблицы 8.5

Сепсис	1 / 0,7±0,7	2 / 1,4±1,0	15 / 5,9±1,5	15 / 6,0±1,5
Тромбоэмболия легочной артерии	1 / 0,7±0,7	1 / 0,7±0,7	4 / 1,6±0,8	5 / 2,0±2,0
Острая сердечная недостаточность	0	1 / 0,7±0,7	5 / 2,0±1,0	5 / 2,0±2,0
Токсическая энцефалопатия	0	1 / 0,7±0,7	5 / 2,0±1,0	6 / 2,4±1,0
Кровотечение из раны	2 / 1,4±1,1	2 / 1,4±1,0	12 / 4,7±1,3	13 / 5,2±1,4
Вторичное нагноение раны	1 / 0,7±0,7	3 / 2,1±1,2	17 / 6,7±1,7	13 / 5,2±1,4
Лизис лоскута / трансплантата	3 / 2,2±1,3	2 / 1,4±1,0	8 / 3,1±1,1	12 / 4,8±1,3
Несостоятельность швов на ране	3 / 2,2±1,3	2 / 1,4±1,0	9 / 3,5±1,2	10 / 4,0±1,3

Также был проведен анализ количества койко-дней по группам больных. Данные приведены в Таблице 8.6.

Таблица 8.6 - Койко-дни по группам больных, $P \pm m$

Группы больных	Средний койко-день
Первая группа (n=134)	29,7 $\pm$ 3,8
Вторая группа (n=142)	23,0 $\pm$ 3,4
Третья группа (n=254)	39,2 $\pm$ 3,7
Четвертая группа (n=252)	45,7 $\pm$ 3,8

При анализе таблицы можно сделать вывод, что койко-день в среднем был ниже в первой и во второй группах больных – 29,7 $\pm$ 3,8 и 23,0 $\pm$ 3,4 соответственно. В третьей и четвертой группах больных средний койко-день был выше, соответственно, 39,2 $\pm$ 3,7 и 45,7 $\pm$ 3,8.

Приводим клинический пример лечения с применением VАС-терапии.

1.Больной Т., 63 года, поступил с жалобами на наличие раны в правой пяточной области, боль в ней. Обратился через 3 месяца от начала заболевания, когда появилась рана в области пятки справа.

Из анамнеза: страдает сахарным диабетом 12 лет, на инсулине, уровень гликемии крови скорригирован на уровне 6-7 ммоль/л. Страдает облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей. Год назад произведено стентирование общей подвздошной артерии слева, бедренно-подколенное дистальное шунтирование слева по поводу облитерирующего атеросклероза.

При поступлении: общее состояние удовлетворительное. Температура тела 36,7⁰С. Кожные покровы и видимые слизистые обычной окраски. Гемодинамика стабильная, АД – 130/80 мм рт.ст., ЧСС – 82/мин.

Место болезни: по латеральному контуру правой пяточной области определяется рана до 4х6 см, часть ее эпителизируется. Дно раны – вялые грануляции, отделяемое скудное серозное, грануляции покрыты фибрином.

Пульсация артерий бедра: справа – сохранена, слева – сохранена, подколенных артерий: справа –сохранена, но ослаблена, тыльные артерии стоп: справа – не определяется, задние большеберцовые артерии: справа – не определяется. Все виды чувствительности резко снижены на обеих стопах.

При рентгенографии стопы костно-деструктивных изменений нет. Лабораторные показатели: общий анализ крови: Нв-139 г/л, эр. – 5.02 Т/л, Л. - 8.4 Г/л, СОЭ-11 мм/ч, п-6, с-59, э-2, м-3, л-30. Общий анализ мочи: желтая, слаб. мутная, р-я с/кислая, отн. плотность- 1018, белок –1,02., глюкоза- нет, эритроциты изм.– 0-4 в п/зрения, Л. 0-2 в п/зр., эпителий – не выявлен, Гликемия: 6.3 -7.6 -4.77 ммоль/л. ДИАГНОЗ: Сахарный диабет 2 типа, тяжелое течение, декомпенсация. Осложнения: ишемическая форма синдрома диабетической стопы слева. Диабетическая язва правой стопы. Вагнер 2 справа. Соп: ИБС, Н1, ГБ2 ст. Произведено: поэтапная некрэктомия, 2 сеанса по 3 суток VАС-терапии, аутодермотрансплантация. Медикаментозная терапия: актропид, протафан, внутримышечно цефепим 2 грамма в сутки, анальгетики. Гигиенические ванночки. перевязки с гормональными мазями. В результате проведенного лечения отек стопы и боли уменьшились, пяточная область на всем протяжении закрыта фиксированной аутокожей. Больной выписан после 30 дней пребывания в стационаре. Затем наблюдался в кабинете диабетической стопы в течение 10 дней. Полное заживление раны через 42 суток. (Рисунки 8.1. - 8.1.9.)



Рисунок 8.1- Аппарат для вакуум-терапии NP50H



Рисунок 8.2-Вид послеоперационной раны правой стопы на 1-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.3- Вид послеоперационной раны правой стопы на 2-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.4 -Вид послеоперационной раны правой стопы на 4-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.5- Вид послеоперационной раны правой стопы на 14-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.6- Вид послеоперационной раны правой стопы на 25-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.7- Вид послеоперационной раны правой стопы на 30-е сутки после аутодермопластики

Приводим клинический пример применения УЗ- кавитации.

Больной С., 64 года, обратился через месяц от начала заболевания с жалобами на наличие раны в области культи правой стопы, боли в ней. Диагноз: сахарный диабет 2 типа, тяжелое течение. Осложнение: синдром диабетической стопы, смешанная форма, инфицированная рана культи правой стопы. Вагнер 3 ст. справа. Сопутствующий: гипертоническая болезнь 3 степень, риск 4. ИБС : Атеросклеротический кардиосклероз. Гипертоническая болезнь 2-3 ст. ХСН 2А-Б ожирение 4 степени. Диабетическая нефропатия ХПН 1. Жалобы на наличие раны в области культи правой стопы, боли в ней. Анамнез заболевания: страдает сахарным диабетом с 2012 года, получает инсулин. Ампутация стопы по Шарпу месяц назад по поводу гангрены правой стопы. Объективно при поступлении: общее состояние средней степени тяжести, ЧСС – 80 в 1 мин., АД – 140/90 мм.рт.ст., ЧДД – 18 в 1 мин. Температура тела 37,1⁰С. Местно: на культе правой стопы имеется рана 8х4 см с гнойно-фибринозным отделяемым, кожа стоп сухая, бледная, пастозность голеней. Пульсация на периферии не определяется, на магистральных артериях удовлетворительная. Все виды чувствительности резко снижены на обеих стопах. Гликемический профиль: – 7,29 – 6,4 – 6,00 – 5,54 – 5,12 ммоль/л, протеинурия. Дуплексное сканирование артерий нижних конечностей: атеросклероз артерий нижних конечностей, окклюзия левой поверхностной бедренной артерии в проксимальном отделе. Справа — признаки стеноза ~50% бедренно-подколенного сегмента, артерий голени. Слева — стенотические изменения бедренно-подколенного сегмента (~50%), окклюзия передней тибиальной артерии, субтотальный стеноз задней большеберцовой артерии. В отделении получал: инсулинотерапия: Актропид – 36 ЕД, Протофан – 18ЕД, Актропид – 18ЕД, октолипен 900 мг в/в капельно, фуросемид 2,0 в/в, канефрон 2х3р/д, ванкомицин 1 гр. в/в капельно. Произведено: хирургическая обработка раны, 2 сеанса УЗ-кавитации, аутодермотрансплантация, в дальнейшем – перевязки с гормональными мазями. Аутоотрансплантаты прижились.

Больной выписана после 25 дней пребывания в стационаре. Затем лечился амбулаторно в течение 2-х недель. Полное заживление раны через 39 суток. (Рисунки 8.8. – 8.12).



Рисунок 8.8- Аппарат для ультразвуковой кавитации «Sonoca-180»



Рисунок 8.9-Ультразвуковая обработка раны



Рисунок 8.10- Вид послеоперационной раны культи правой стопы



Рисунок 8.11- Вид послеоперационной раны культи правой стопы на 25-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.12- Вид послеоперационной раны культи правой стопы на 39-е сутки после аутодермопластики

Приводим клинический пример использования лазеро-, озонотерапии.

Больная П., 59 лет, поступила спустя 20 сут. от начала заболевания. Основной диагно: Сахарный диабет 2 типа, тяжелое течение. Осложнение: нейроишемическая форма синдрома диабетической стопы справа. Гнойно-некротическая флегмона пяточной области правой стопы. Флегмона правой голени. Вагнер 3 справа. Из анамнеза известно, что страдает сахарным диабетом около 5 лет, принимает пероральные гипогликемические препараты (манинил 5), контроль гликемии проводится нерегулярно, последние 2 года беспокоят парестезии в обеих нижних конечностях, чувство зябкости стоп, боли в икроножных мышцах после прохождения около 250 метров. При поступлении предъявляет жалобы на боли, отек правой стопы и голени, наличие некротической раны в пяточной области правой стопы. Состояние средней тяжести, АД – 150/80 мм. рт. ст., ЧСС – 92 в 1 мин, ЧД – 16 в 1 мин. Температура тела – 37,8⁰С. Дуплексное сканирование магистральных сосудов н/конечностей. Субтотальный стеноз подколенной

артерий справа, стеноз берцовых артерий. Локально: в пяточной области правой стопы мягкие ткани напряжены, гиперемия кожи, местами кожа некротизирована, отёк и гиперемия распространяется на голень, по ходу ахиллового сухожилия, в н/з правой голени по задней поверхности эпидермальный пузырь с геморрагическим содержимым, отек стопы. Пульсация артерий бедра: справа – сохранена, слева – сохранена; подколенных артерий: справа – сохранена, но ослаблена, тыльные артерии стоп: справа – не определяется; задние большеберцовые артерии: справа – не определяется. Все виды чувствительности резко снижены на обеих стопах. При рентгенографии стопы костно-деструктивных изменений нет. При лабораторном исследовании гликемия: 9,3 – 13,0 – 11,6 – 9,5 – 10,0 – 7,0 ммоль/л, протеинурия. Больной при поступлении проведена хирургическая обработка флегмоны стопы и голени под внутривенным наркозом, иссечены некротические ткани. Медикаментозное лечение включала антибактериальную терапию (максипим, метрогил,), дезагреганты (пентоксифиллин, никотиновая кислота), нейротрофики и антиоксиданты (витамин Е, С, берлитион), инфузионную терапию, иммунотерапию (ронколейкин), анальгетики, коррекцию гликемии (инсулинотерапия). В послеоперационном периоде больной проводилась поэтапная некрэктомия (выполнено 4 некрэктомии) и затем местная лазеротерапия (7 сеансов) с внутривенным введением озонированного физиологического раствора хлорида натрия 200 мл при концентрации озона 4,8 мг/л, количество процедур- 8. Для местного лечения раны применяли воскопран, затем коллоидные повязки. После очищения раны и появления грануляций, на 22 сутки, произведена повторная хирургическая обработка раны с пластикой местными тканями+аутодермопластика. Выписана после 29 дней пребывания в стационаре. Затем наблюдалась в кабинете диабетической стопы в течение 2-х недель. Полное заживление раны через – 48 суток. (Рис.8.13 -8.20).



Рисунок 8.13-Вид послеоперационной раны правой стопы при поступлении



Рисунок 8.14- Вид послеоперационной раны правой стопы и голени на 2-е сутки

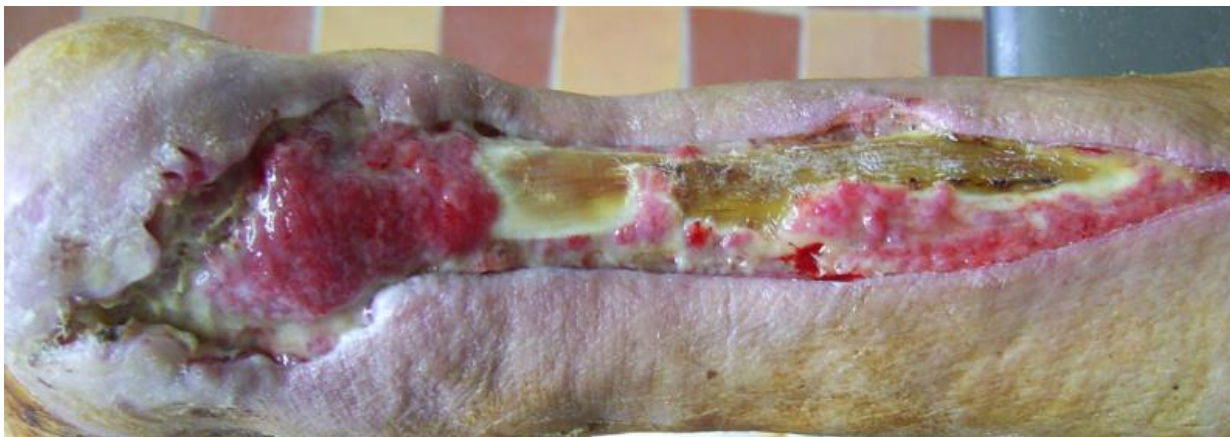


Рисунок 8.15- Вид послеоперационной раны правой стопы и голени на 12-е сутки



Рисунок 8.16- Вид послеоперационной раны правой стопы и голени на 20-е сутки



Рисунок 8.17- Вид послеоперационной раны правой стопы и голени на 25-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.18- Вид послеоперационной раны правой стопы на 30-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.19- Вид послеоперационной раны правой стопы на 36-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.20-Вид послеоперационной раны правой стопы на 48-е сутки после аутодермопластики

Приводим клинический пример лечения больной с применением традиционных схем лечения.

Больная Г., 65 лет, поступила с жалобами на наличие раны в области культи левой стопы, боли в ней, повышение температуры тела до 37,9 °С, недомогание. Обратилась спустя месяц от начала заболевания, когда появилась рана и боль в культе левой стопы. Из анамнеза известно, что страдает сахарным диабетом 2 типа в течение 19 лет, принимает регулярно пероральные гипогликемические препараты (манинил), контроль гликемии осуществлялся нерегулярно. Ампутация стопы по Шарпу 4 месяца назад по поводу гангрены левой стопы. Сопутствующие заболевания – артериальная гипертензия. При первичном осмотре: состояние средней тяжести, ЧСС – 98 в минуту, АД – 160/70 мм рт. ст., ЧД – 17 в 1 минуту. Локально: на культе левой стопы имеется рана 12х8 см с гнойно-фибринозным отделяемым, кожа стоп сухая, бледная. При обследовании выявлены следующие изменения: глюкозурия, протеинурия, гликемия – 13,9 ммоль/л, резкое снижение вибрационной (1–2 у.е.), тактильной, болевой и температурной чувствительности в пределах стопы. При дуплексном сканировании стеноз подколенной, окклюзия берцовых артерий. На рентгенограмме стопы костно-деструктивных изменений не найдено. ЭКГ - признаки гипертрофии левого желудочка и правого предсердия. Диагноз: Сахарный диабет 2 типа, тяжелое течение, декомпенсация. Осложнения: Нейроишемическая форма синдрома диабетической стопы слева. инфицированная рана культи правой стопы. Вагнер 3 ст. справа. Сопутствующий: ИБС. Артериальная гипертензия. Дисциркуляторная энцефалопатия. Консервативная терапия включала: цефепим внутривенно 4 г/сутки, метрогил внутривенно 1,5 г/сут в течение 10 дней, затем ципрофлоксацин 400 мг/сутки внутрь 15 суток; инфузионная терапия; антиоксиданты (витамины Е и С) и нейротрофики (берлитион); иммунотерапию (ронколейкин); коррекцию гликемии (инсулинотерапия). Больной проводилась поэтапная некрэктомия, проведена повторная хирургическая обработка раны с пластикой местными тканями, аутодермопластика, в дальнейшем – перевязки с салфетками хлоргексидина. Аутоотрансплантаты прижились. Рана заживает

вторичным натяжением. Больная выписана из стационара через 56 суток от поступления (Рисунки 8.21- 8.28).



Рисунок 8.21- Вид послеоперационной раны культи левой стопы при поступлении



Рисунок 8.22- Вид послеоперационной раны культи левой стопы на 8-е сутки



Рисунок 8.23- Вид послеоперационной раны культи левой стопы на 20-24-е сутки

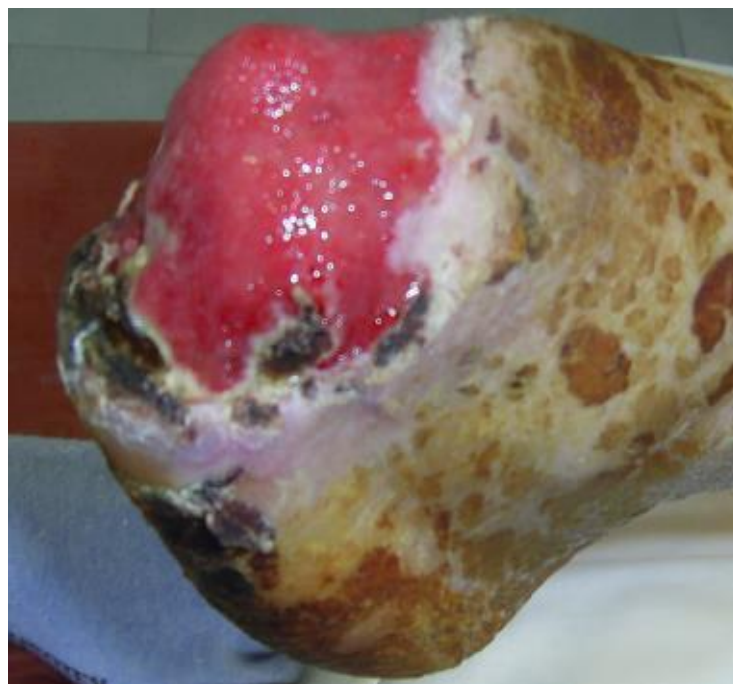


Рисунок 8.24- Вид послеоперационной раны культи левой стопы на 36-е сутки



Рисунок 8.25- Вид послеоперационной раны культи левой стопы на 41-е сутки после аутодермопластики



Рисунок 8.26- Вид послеоперационной раны левой стопы на 56-е сутки после аутодермопластики

Выводы:

1. Средняя длительность стационарного лечения в группе с VAC- терапией и УЗ- кавитацией составила $29,7 \pm 3,8$ и $32,0 \pm 3,4$ койко-день соответственно. В группе с использованием лазеро-, озонотерапии и в группе с традиционным лечением средний койко-день был несколько выше, соответственно, $39,2 \pm 3,7$ и $45,7 \pm 3,8$, $p < 0,001$.

2. В группе больных с VAC- терапией ранние послеоперационные осложнения наблюдались у 13 ($9,7 \pm 2,6\%$) больных, во второй группе (УЗ-кавитация) больных – у 17 ($12,0 \pm 2,7\%$) пациентов, в третьей группе больных (лазеро- и озонотерапия в сочетании) – 87 ($34,2 \pm 2,0\%$) осложнений, в контрольной группе (традиционное лечение) пациентов 95 осложнений ($37,7 \pm 3,0\%$), $p < 0,001$.

3. Применение VAC-терапии, УЗ-кавитации, озоно- и лазеротерапии способствовало скорейшему очищению ран, сокращению площади раневых дефектов, позволило в более короткие сроки, чем при традиционном лечении, уменьшить или ликвидировать воспалительный процесс, стимулировало развитие грануляционной ткани и ускорило процесс эпителизации.

4. Включение современных методов лечения (ультразвуковой кавитации и вакуумного дренирования) при диабетических язвах позволяет выполнить более радикальную хирургическую обработку раны без избыточной хирургической агрессии и позволяет избежать многоэтапного хирургического лечения.

ОБОБЩЕНИЕ И АНАЛИЗ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Синдром диабетической стопы (СДС) в соответствии с концепцией, принятой Консенсусом по диабетической стопе, характеризуется наличием язвенного дефекта или деструкцией глубоких тканей, связан с неврологическими нарушениями, снижением магистрального кровотока в артериальном бассейне нижних конечностей различной степени тяжести с нарушением всех фаз заживления раны.

Перспективным направлением лечения и диагностики СДС является исследование структурно-функционального состояния эндотелия, синтеза биорегуляторов функции тромбоцитарно-плазменной и эндотелиальной системы. Повреждение сосудистого русла при СДС сопровождается выраженным дисбалансом факторов роста, регуляторов сосудистого тонуса, цитокинов, хемокинов, ответственных за инициацию воспаления. Течение воспалительного процесса с преобладанием той или иной фазы определяется действием вазорегуляторных факторов.

Несмотря на определенные успехи и достижения в изучении патогенеза СДС, механизмы репарации при этом заболевании изучены недостаточно. Поскольку процессы ангиогенеза, иммуно- и тромбореактивности обеспечиваются регуляторными влияниями эндогенных факторов роста, цитокинов и хемокинов, изучение их реакции на усиление кровоснабжения, течение раневого процесса и репарации как звеньев патогенеза СДС представляет большой интерес. Исследование содержания маркера ангиогенеза актуально и с позиций его возможного использования как новой терапевтической мишени, так как невысокая эффективность лечения СДС, безусловно, требует поиска альтернативных стратегий его лечения.

Это обуславливает актуальность изучения роли факторов роста, цитокинов в патофизиологических процессах репарации язвенных дефектов при СДС, на

основании чего доказана эффективность применения различных лечебных программ у данной категории больных.

Совокупность вышеизложенных факторов, по мнению авторов, дала возможность выйти на многофакторный анализ и прогноз исхода лечения больных с СДС с использованием созданной математической модели.

Вместе с тем недостаток доказательных данных и опыта применения тех или иных подходов в лечении больных с СДС в условиях практического здравоохранения стали побудительным мотивом для проведения данного исследования.

Диссертационная работа выполнена согласно плану научно-исследовательской работы кафедры внутренних болезней №2 ФГБОУ ВО ДонГМУ Минздрава России и является фрагментом темы «Макро- и микрососудистые осложнения у больных с сахарным диабетом 2 типа: клинико-лабораторные, инструментальные особенности и лечебная тактика» № регистрации шифр УН 21.02.10.

Целью данного исследования было обосновать выбор программ хирургического лечения пациентов с диабетическими язвенно-некротическими поражениями нижних конечностей на основании уточнения сведений о патогенезе раневого процесса (выделенных наиболее значимых прогностических предикторов раневого процесса) и созданной математической модели.

Нами были изучены результаты лечения 782 больных с синдромом диабетической стопы, которые находились на стационарном лечении в хирургических отделениях ГБУ «ЦГКБ №9 г.Донецка», ГБУ «ГКБ №21 г. Донецка, отделении сосудистой хирургии ДОКТМО в период с 2014 по 2022гг.

Все больные были разделены на четыре группы. Первую группу составили 134 (17,1(1,3)%) человека, для лечения которых применялась система VAC-дренирования. Во вторую группу вошло 142 (18,1(1,4)%) пациента, у которых применялась ультразвуковая кавитация во время хирургической обработки ран. Третью группу составили 254 (32,5 (1,7)%) больных, для лечения которых применяли лазеро- и озонотерапию. В четвертую группу (контрольную) вошло

252 (32,2 (1,7)%) пациента, для лечения которых применялись стандартные схемы лечения. По знаковому критерию Z группы больных между собой сопоставимы.

Летальные исходы в работе не учитывались. Причинами смерти послужили сепсис, некорректируемая сопутствующая патология, послеоперационные осложнения.

Критериями включения в исследования были: наличие у пациентов сахарного диабета, синдрома диабетической стопы, раневого или язвенного дефекта на стопе, совершеннолетие пациентов, психическое здоровье. Критериями исключения являлись: здоровые люди, отсутствие раневого или язвенного дефекта на стопе, дети и подростки, психические заболевания.

Во всех группах больных проводилось проспективное рандомизированное исследование. Методология исследования построена на основе модели «случай-контроль».

Все пациенты получали своевременную (с момента поступления) специализированную хирургическую помощь и консервативное лечение.

У больных всех групп операции на сосудах (стентирование, шунтирование сосудов и т.д.) выполнялись по показаниям и своевременно.

Средний возраст больных составил 65,7(8,2) лет. Подавляющее большинство составили мужчины – 412 (52,7(1,8)%) человек, женщин было 370 человек (47,3 (1,8)%).

Преобладал диабет средней тяжести и тяжелый сахарный диабет, 178 пациентов (22,8 (1,5)%) и 536 человек (68,5 (1,7)%) соответственно.

Сахарный диабет в стадии компенсации был у 76 пациентов (9,7 (1,0)%), стадия субкомпенсации – у 240 больных (30,7 (1,7)%), декомпенсированный сахарный диабет был у большинства больных – 466 человек (59,6 (1,7)%).

Ишемическая форма диабетической стопы была выявлена у 156 больных (19,9 (1,4)%), нейропатическая – у 290 пациентов (37,1 (1,7)%), смешанная – у 336 больных (43,0 (1,8)%).

Большая часть пациентов находилась в состоянии средней тяжести – 368 человек (47,1 (1,8)%), в тяжелом состоянии поступили 266 пациентов (29,0

(1,6%), в относительно удовлетворительном состоянии – 148 больных (18,9 (1,4)%).

У 685 (87,6 (1,2)%) пациентов была выявлена сопутствующая патология при поступлении (ИБС, МКБ, язвенная болезнь, ожирение и др.)

Большинство пациентов были оперированы как в экстренном порядке, так и в раннем плановом – 695 (88,9 (1,1)%) пациентов, 87 (11,1 (1,1)%) больных были пролечены консервативно, с использованием раневых покрытий, мазей на гидрофильной основе.

В первой группе пациентов оперативное лечение выполнялось в два этапа, оперировано было 100% больных. Первым этапом выполнялась первичная/вторичная хирургическая обработка раны с наложением аппарата VAC-дренирования. На втором этапе VAC-аппарат снимался, выполнялась одна из видов пластик для закрытия раны. Во второй группе также были оперировано 100% пациентов, первичная/вторичная обработка раны дополнялась ультразвуковой кавитацией раны, после чего предпринималась попытка закрытия раны. В третьей и четвертой группах больных большая часть пациентов, 78,0 (2,1)% и 87,7 (2,1)% соответственно, были оперированы. Консервативно было пролечено 22,0 (2,6)% больных в третьей группе и 12,3 (2,1)% в четвертой группе больных.

Всего патоморфологическому исследованию подверглись 162 пациента (20,7 (1,5)%) от общего числа больных, которые были разделены на 4 группы в зависимости от типа лечебных программ. Материал для исследований брали из стенок раны на 1-2 и 8 сутки после лечения. У данной выборки пациентов одномоментное закрытие раневого дефекта не представлялось возможным из-за геометрии и глубины раны.

На момент поступления в стационар (до начала лечения) у всех обследованных пациентов с диабетической стопой морфологическому исследованию подвергали участки краев и центра ран, полученных после первичной хирургической обработки. Ткани иссеченных участков у всех

обследованных пациентов в основном представлены лейкоцитарно-некротическим детритом.

У пациентов 1-й группы по краям ран к 8 суткам VAC-терапии лейкоцитарная инфильтрация краев ран была достоверно в 1,27 раза выше, чем при традиционном лечении (4-я группа) (в среднем 85,4% против 62,3%; $p=0,010$). В центральных отделах дна ран нейтрофилы регистрировали в 2,3 раза реже у больных после VAC-терапии ($Me=19,1\%$), чем у пациентов до лечения ($Me=43,8\%$, [37,2:52,9]), ($p=0,033$; U-критерий Манна-Уитни).

На дне ран пациентов 1-й группы в 2,38 раза чаще регистрировали фибробласты ($Me=15,5\%$), чем у таковых до лечения ($Me=6,5\%$), ($p=0,017$; U-критерий Манна-Уитни). Отношение удельных площадей тканевых элементов ЛИ:ПКВ:ОАВ:ГМЦР в области краев ран имело вид 47:14:13:26, а в области дна ран – 13:10:14:63, что подтверждает снижение воспалительного процесса и доминирование грануляционной ткани с вновь образованными сосудами ГМЦР.

Использование во 2-й группе пациентов УЗ-кавитации сопровождалось сходными с 1-й группой структурными изменениями в тканях ран, однако сохранялись признаки гидропической трансформации дермы и встречались отдельные участки некротического детрита. Характерной была сходная картина нейтрофильной инфильтрации в краях и дне ран, где доминирующей популяцией были нейтрофилы (численность нейтрофилов в среднем в 1,25-1,41 раза превышала таковую до лечения ($p<0,05$). В области краев ран увеличивалась численность фибробластов в 1,81 раза ($Me=15,7\%$), чем у больных до лечения ($Me=8,7\%:14,6$), $p = 0,025$, U-критерий Манна-Уитни). Однако формирование грануляций происходило на фоне увеличения удельной площади ОАВ, что может быть связано с повышенной проницаемостью сосудов ГМЦР. Данный факт подтверждает меньшая численность микрососудов сосудов при большем их среднем диаметре. Фибробласты дна ран наблюдались в 1,77 раза реже, чем у больных до лечения ($Me = 3,7\%$, МКР), $Me=6,5\%$;), $p=0,013$; U-критерий Манна-Уитни).

В группе больных, где использовали озono- и лазеротерапию (3-я группа) сохранялись признаки лейкоцитарной инфильтрации краев раны и уменьшение ее в направлении дна ран. Однако степень развития грануляционной ткани была менее выраженной, чем в 1-й группе больных с VAC-терапией. В области дна ран нейтрофилы регистрировали в 2,1 раза реже у больных после озono- и лазерной терапии ($Me = 20,8\%$), чем у пациентов до лечения ($Me=43,8\%$), $p=0,028$; U-критерий Манна-Уитни). Фибробласты выявляли чаще в области краев ран - в 3,81 раза ($Me=33,2\%$), чем до лечения ($Me=8,7\%$; , $p = 0,019$; U-критерий Манна-Уитни). Характерным было доминирование популяции лимфоцитов над макрофагами в краях ран и сходно низкая численность лимфоцитов и макрофагов в области дна раны. Признаки эпителизации были наименее выраженными по сравнению с другими видами физического воздействия (1-я, 2-я группы) и встречались в 14% препаратов.

При использовании традиционного лечения без применения методов физического воздействия на раневой процесс (4-я группа) на 8 сутки в биоптатах тканей раны выявили скопление гемосидерина, локальные признаки острого воспаления, увеличение удельной площади грануляционной ткани в области краев ран в 41% препаратов. Лейкоцитарные инфильтраты в дерме краев раны сохранялись, однако снижалась численность нейтрофилов в 1,36 раза ($Me=48,2\%$; против $Me=65,7\%$; до лечения), плазмоцитов (в 1,7 раз, $p=0,046$), возрастал удельный вес макрофагов и лимфоцитов (соответственно в 3,86 и 2,2 раза, $p<0,001$). Сравнительный анализ количества нейтрофилов в области дна раны продемонстрировал тенденцию к незначительному увеличению у больных 4-й группы в 1,15 раза ($Me = 50,4\%$) по сравнению с таковой у больных до лечения ($Me = 43,8\%$, $p=0,077$).

При бактериологическом контроле результаты бактериологического исследования раневого отделяемого были положительными у всех пациентов в данной выборке. При этом у 75 больных (46,3 (2,9)%) флора представлена монокультурой.

У 87 пациентов (53,7 (3,9)%) микробный пейзаж был представлен ассоциациями микроорганизмов.

При изучении флоры, представленной монокультурой, было выявлено, что большинство идентифицированных микроорганизмов составили грамположительные микроорганизмы – 52 (69,3 (5,3)%), среди которых чаще всего определялся золотистый стафилококк – 39 человек (75,0 (6,0)%). Кроме золотистого стафилококка также были отмечены зеленящий стрептококк – у 8 пациентов (15,4 (5,0)%) и эпидермальный стафилококк – у 5 человек (9,6 (4,1)%).

Грамотрицательная монокультура была выделена у 23 больных (30,7 (5,3)%). В ряду грамотрицательных бактерий преобладали кишечная палочка – 11 случаев (47,8 (10,4)%) и протей – 12 человек (52,2 (10,4)%).

Микробный пейзаж смешанной флоры в основном был представлен ассоциациями микроорганизмов: золотистый стафилококк и кишечная палочка – 21 случай (24,1 (4,6)%), золотистый стафилококк и синегнойная палочка – 32 случая (36,8 (5,2)%), протей и синегнойная палочка – 12 человек (13,8 (3,7)%), золотистый стафилококк, протей и синегнойная палочка – 22 человека (25,3 (4,7)%).

До начала лечения раны во всех наблюдениях характеризовались высокой бактериальной обсемененностью (10^{7-8} КОЕ/1г ткани). Уменьшение уровня бактериальной обсеменённости тканей раны ниже критического (10^5 КОЕ/г) достигалось в среднем к 5-м суткам против 7-х суток при традиционных методах местного лечения ран ($p < 0,001$) при лазеротерапии, УЗ-кавитации и VАС-терапии. На 7-е сутки лечения после курса лазеротерапии (3 группа) пациенты с микробной колонизацией не встречались, степень бактериальной обсемененности ран пациентов 1, 2, 4 групп составляла в среднем $10^2 - 10^3$ микробных клеток на 1 г ткани. При изучении динамики микробной обсемененности гнойного очага в ходе лечения выявлено, что под действием физических методов воздействия (лазеротерапии, озонотерапии и лечения отрицательным давлением) быстрее происходит снижение его микробной обсемененности по сравнению с

традиционными методами лечения ($p < 0,001$). Наблюдаемый бактерицидный эффект оказался более выраженным при использовании лазеротерапии.

Исследование чувствительности к антибиотикам, показало, что наиболее эффективными препаратами как к грамположительным, так и к грамотрицательным микроорганизмам были полусинтетические пенициллины (амоксиклав), цефалоспорины 2-4 поколений (цефазолин, цефотаксим, цефоперазон, цефепим), производные орнидазола (метрогил) и клиндамицин (далацин Ц), а также антибиотики резерва (меропенем, ванкомицин, тиенам).

Рассмотрены результаты лечения 170 пациентов, которым были выполнены РВО на сосудах в условиях отделения сосудистой хирургии ДОКТМО. Все пациенты страдали сахарным диабетом, окклюзионно – стеноотическими поражениями бедренно-подколенно-берцового сегмента, хронической ишемией нижних конечностей в стадии ишемических болей покоя и наличием язвенно-некротических дефектов кожных покровов. Пациенты были разделены на 4 группы, в зависимости от типа подготовительных вмешательств перед пластическим закрытием дефекта. В первой группе было 45 человек, которым были выполнены РВО в объёме открытых и эндоваскулярных вмешательств, которым впоследствии было показано и выполнено VAC- дренирование зоны язвенно-некротического дефекта. Вторая группа представлена 42 пациентами, у которых применялась ультразвуковая кавитация во время хирургической обработки ран. Третью группу составили 43 больных, для лечения которых применяли лазеро- и озонотерапию. В четвертую группу вошло 40 пациентов, для лечения которых применялись стандартные схемы лечения. Возраст больных составлял от 52 до 82 лет (64,33(4,33)). Длительность заболевания сахарным диабетом составила от 0,2 до 36 лет (11,23 (5,65)). Уровень гликозилированного гемоглобина (Hb_{A1c}) составлял от 5,6 до 10,1 ммоль/л. В первой группе оперировано 45 пациентов. Выполнено 28 открытых реконструктивных операций, 13 эндоваскулярных вмешательств, 4 гибридные реваскуляризирующие операции в объёме ангиопластики – стентирования и традиционного бедренно-подколенного шунтирования аутовеной или протезом PTFE.

Во второй группе оперировано 42 пациента. Выполнено 30 открытых реконструктивных операций, 10 эндоваскулярных вмешательств, 2 гибридные реваскуляризирующие операции в объёме ангиопластики + БПШ и ангиопластика + эндартерэктомия из НПА (наружная подвздошная артерия).

В третьей группе оперировано 43 пациента. Выполнено 27 открытых реконструктивных операций, 13 эндоваскулярных вмешательств, 3 гибридные реваскуляризирующие операции – РЭД (рентгенэндоваскулярная дилатация) подвздошных артерий со стентированием бедренно-берцовой артерии + аутовенозное шунтирование бедренно-берцового сегмента.

В четвертой группе оперировано 40 пациентов. Выполнено 29 открытых реконструктивных операций, 9 эндоваскулярных вмешательств, 2 гибридные реваскуляризирующие операции – РЭД берцовых артерий со стентированием бедренно-подколенной артерии + аутовенозное шунтирование бедренно-подколенного сегмента.

В 1-й группе пациентов, которым выполнялась VAC - терапия, в сочетании с реконструкцией бедренно – подколенного сегмента, добились наилучших результатов – появления грануляций уже на 8,1(0,56) день, удовлетворительных показателей кровотока по данным УЗДС и физикального обследования. Наглядно хуже результаты были в группе пациентов, которым не были применены стандартные схемы лечения – средний срок появления грануляций составил 12,1 (0,56), что на 4 суток больше, чем в 1 группе пациентов.

Далее более детально были охарактеризованы отдельные виды сердечно-сосудистых и почечных поражений во взаимосвязи с особенностями имевшегося у больных с СДС и с тактикой его лечения.

ИБС была представлена у 359 (45,9%) больных с СДС. Диагноз ИБС устанавливали как на основании клинических данных о наличии у больных синдрома стенокардии, так на данных анамнеза о перенесенных ИМ, а в 86 случаях также на данных коронарной ангиографии о значимом стенозировании одной или более коронарных артерий. Стенокардия I-II функциональных классов (ФК) присутствовала в 112 (14,3%) случаях, III ФК – в 57 (7,3%) случаях.

Перенесенный ранее ИМ был зарегистрирован в 244 (31,2%) наблюдениях, причем он был представлен как ИМ с патологическим зубцом Q на электрокардиограмме в 104 (13,3%) и ИМ без зубца Q – в 140 (17,9%) случаях; ИМ имел переднюю локализацию в 152 (19,4%) и заднюю локализацию в 92 (11,8%) случаях; повторный ИМ был зарегистрирован у 58 (7,4%) больных.

Доли лиц как с ИБС, так и с ИМ существенно зависели от формы СДС. Так, среди лиц со смешанной формой СДС ИБС имела место в 204 (78,6%) наблюдениях, перенесенный ИМ – в 141 (41,9%) наблюдениях, что оказалось статистически значимо выше, чем при нейропатической форме – 111 (38,3%) и 76 (26,2%) соответственно, а также при ишемической форме СДС – 44 (28,2%) и 27 (17,3%) случаях, соответственно, все $p < 0,001$.

Оценка параметров липидного спектра была выполнена у 367 больных. При этом оценивали уровни таких параметров как общий холестерин, холестерин липопротеидов низкой и высокой плотности, триглицериды. Определяемые иммуноферментным методом концентрации Аполипопротеина А1 (Human Apo A1 ELISA Kit, США), аполипопротеина В (Human Apo B ELISA Kit, США) и липопротеина (а) (Human Lp(a) ELISA Kit, США) оценивали у 84 человек.

Уровни холестерина липопротеидов низкой плотности при ишемической форме СДС составили 4,13 (0,76) ммоль/л, что оказалось ниже, чем при нейропатической форме – 4,32 (0,91) ммоль/л, а также при смешанной форме СДС – 4,32 (0,91) ммоль/л, и особенно при смешанной форме ДС – 4,84 (0,71) ммоль/л, $p < 0,001$. Подобные различия между формами имели место и для содержания триглицеридов – соответственно 1,56 (0,37), 1,79 (0,38) и 1,91 (0,42) ммоль/л; Аполипопротеина В – соответственно 1,04 (0,11), 1,13 (0,21) и 1,23 (0,11) мг/мл, а также для липопротеина (а) – соответственно 116,4 (21,3), 149,5 (34,9) и 183,1 (51,7) мкг/мл, все $p < 0,001$.

Среди всех 782 больных с СДС 480 человек (61,4%) никаких гиполипидемических препаратов регулярно не принимали, хотя по данным амбулаторных карт прием этих средств врачами им ранее был рекомендован, у них также отсутствовал необходимый лабораторный контроль параметров

липидного спектра. На регулярной основе при соответствующем лабораторном контроле липидемии и уровней печеночных показателей 213 больных (27,2%) принимали низкие дозы статинов (аторвастатин в дозах 10-20 мг/сут или розувастатин 5-10 мг/сут), а 89 (11,4%) получали умеренные или высокие дозы статинов (аторвастатин 40-80 мг/сут или розувастатин 20 мг/сут) в сочетании с препаратами урсодезоксихолевой кислоты (750-1750 мг/сут в зависимости от массы тела). Оценка параметров в динамике на фоне не менее чем 4-месячного приема гиполипидемических препаратов была выполнена у 367 больных.

При оценке липидных показателей в динамике среди лиц, получавших низкие дозы статинов, степень гиполипидемического эффекта была относительно невысокой, в отличие от тех, кто получал эти препараты в умеренной / высокой дозе в сочетании с урсодезоксихолевой кислотой. Так, в подгруппе, получавшей низкие дозы статинов, степень снижения уровней холестерина липопротеидов низкой плотности составила в среднем 17,6 (5,6)% от исходных величин; триглицеридов, соответственно, 12,3 (3,5)% от исходных величин; что оказалось статистически значимо ниже, чем в подгруппе, получавшей статины в умеренной / высокой дозе в сочетании с УДХК – соответственно 32,9 (5,4)% и 18,7 (3,2)%, все $p < 0,001$.

Обращает на себя внимание удовлетворительная переносимость лечения в обеих подгруппах пациентов, получавших гиполипидемическую терапию. Так, повышение уровней аминотрансфераз крови на $\geq 30\%$, в сравнении с исходными их значениями, было отмечено в процессе применения статинов лишь у 3 (1,4%) больных, получавших низкие дозы статинов, и у 7 (7,9%) больных, принимавших статины в умеренной / высокой дозе в сочетании с урсодезоксихолевой кислотой.

Во всех группах больных с СДС, получавших разные варианты хирургического лечения, имела место практически однотипная связь его результатов с наличием в анамнезе перенесенного ИМ, а также с проведением лечения статинами и с его интенсивностью.

Так, среди лиц 1-й группы, где для лечения применяли систему VAC - дренирования, средняя продолжительность пребывания в стационаре и процент

послеоперационных осложнений оказались статистически значимо ниже у больных, ранее не переносивших ИМ (соответственно, 27,3 (3,7) койко- дней и 8,7 (2,7)%), в сравнении с теми, кто имел ИМ в анамнезе (соответственно, 34,9 (4,1) койко- дней и 11,9 (2,4)%); у больных, получавших гиполипидемическую терапию (соответственно, 28,5 (3,6) койко- дней и 8,8 (2,9)%), в сравнении с теми, кто этого лечения не принимал (соответственно, 34,0 (2,8) койко- дней и 13,1 (2,6)%); а также у тех, кто получал умеренные / высокие дозы статинов в сочетании с УДХК (соответственно, 23,4 (2,9) койко- дней и 7,3 (1,8)%), в сравнении с теми, кто использовал низкие дозы статинов (соответственно, 30,2 (4,3) койко- дней и 9,3 (2,5)%), все $p < 0,001$.

Среди больных 2-й группы, где во время хирургической обработки ран применяли ультразвуковую кавитацию, продолжительность пребывания в стационаре и процент послеоперационных осложнений были достоверно ниже у лиц без ИМ в анамнезе (соответственно, 30,9(3,70) койко- дней и 10,4(2,3)%), в сравнении с теми, кто ранее ИМ переносил (соответственно, 34,5 (3,2) койко- дней и 15,6(2,9)%); у больных, получавших гиполипидемическую терапию (соответственно, 29,4 (3,6) койко- дней и 10,1 (2,5)%), в сравнении с теми, кто ее не получал (соответственно, 35,7 (3,0) койко- дней и 14,8(2,8)%); а также у больных, получавших умеренные / высокие дозы статинов в сочетании с урсодезоксихолевой кислотой (соответственно, 25,7 (3,1) койко- дней и 8,6(1,9)%), в сравнении с лицами, принимавшими низкие дозы статинов (соответственно, 30,7 (3,5) койко- дней и 10,6 (2,8)%), все $p < 0,001$.

Аналогичные различия по продолжительности пребывания в стационаре и проценту послеоперационных осложнений в зависимости от перенесенного ранее ИМ и от характера проводимой гиполипидемической терапии имели место также в группе 3, для лечения которых в послеоперационном периоде применяли лазеро- и озонотерапию в сочетании, и в группе 4, для лечения которых в послеоперационном периоде использовали стандартные схемы лечения.

АГ имела место у 446 (57,0%) лиц с СДС. Она относилась к I стадии в 31 (4,0%) наблюдении, ко II стадии – в 134 (17,1%) и к III стадии – в 281 (35,9%)

наблюдениях. АГ относилась к 1-й степени в 76 (9,7%) случаях, ко 2-й степени – в 266 (34,0%) и к 3-й степени – в 104 (13,3%) случаях. Уровень сердечно-сосудистого риска ввиду наличия диабета с СДС, а во многих случаях и иных диабетических осложнений, у всех больных характеризовался как очень высокий.

ФП присутствовала у 56 (7,1%) больных; в 17 (2,2%) случаях она была пароксизмальной / персистирующей; в 39 (4,9%) – перманентной (постоянной). ХСН была представлена в 127 (16,2%) наблюдениях, в том числе с низкой фракцией выброса ЛЖ ($< 40\%$) – в 62 (7,9%) случаях, с промежуточной фракцией выброса ЛЖ (40-49%) – в 30 (3,8%), с сохранной фракцией выброса ЛЖ ($\geq 50\%$) – в 35 (4,5%) случаях. ХСН относилась к I функциональному классу в 23 (2,9%) наблюдениях, ко II функциональному классу – в 33 (4,2%) и к III функциональному классу – в 71 (9,1%) наблюдении.

Так, АГ имела место при ишемической форме СДС в 45,5% случаев, при нейропатической – в 46,9%, в то время как при смешанной она определялась достоверно чаще – в 71,1% случаев, $p < 0,001$.

ФП была представлена у 5,8% больных с ишемической формой СДС и у 6,2% - с ее нейропатической формой, и отчетливо чаще у 8,6% при смешанной форме СДС, $p < 0,001$.

Доля лиц с ХСН в целом оказалась наиболее высокой у лиц со смешанной формой СДС (21,4%) в сравнении с ее ишемической (12,1%) и нейропатической (12,4%) формами. Кроме того, ХСН III функционального класса также выявлялась достоверно чаще среди больных со смешанной формой СДС (12,5%), в сравнении с ишемической (5,8%) и нейропатической (6,9%), $p < 0,001$.

При изучении связи обсуждаемых сердечно-сосудистых нарушений с результатами послеоперационного лечения в разных группах больных наличия такой связи не было обнаружено для АГ и ХСН в целом. В то же время для с ФП и ХСН III функционального класса подобная связь отмечена. Продолжительность пребывания больных в стационаре, а также процент послеоперационных осложнений оказались более высокими у лиц с ФП, а также с ХСН III

функционального класса в сравнении с теми, у кого эти сердечно-сосудистые нарушения отсутствовали, все $p < 0,001$.

При этом подобная зависимость имела место среди больных, получавших различные варианты послеоперационного лечения, включая систему VАС-дренирования или ультразвуковую кавитацию (1 и 2 группы), так и в группах 3 и 4 (лазеро- и озонотерапия и традиционное лечение). Однотипный вид связи между постоянной формой ФП и ХСН III функционального класса, с одной стороны, и результатами лечения, с другой стороны, подтверждает устойчивый характер неблагоприятного воздействия наличия этих нарушений на исход лечебных мероприятий.

Наличие диабетической нефропатии имело место достоверно чаще при смешанной форме СДС (44,3%) в сравнении с нейропатической (25,5%) и ишемической (21,7%) ее формами; все $p < 0,001$. Кроме того, и доля больных с IV–V стадиями диабетической хронической болезни почек среди лиц со смешанной формой СДС (13,7%) была достоверно выше, чем при нейропатической (9,0%) и, особенно, ишемической (2,6%); все $p < 0,001$.

Проведен анализ результатов послеоперационного лечения больных с СДС в различных группах в зависимости от имевшихся у них уровней СКФ (группы 1 и 2 и, соответственно, 3 и 4 при этом анализе объединены для обеспечения валидности подсчета, принимая во внимание относительную немногочисленность подгруппы лиц с СКФ < 30 мл/мин). При этом продолжительность пребывания в стационаре и процент послеоперационных осложнений оценивались отдельно для лиц с СКФ ≥ 60 мл/мин (573 больных), СКФ в пределах 30-59 мл/мин (133 больных) и СКФ < 30 мл/мин (76 больных).

Средние уровни и продолжительности пребывания в стационаре и процента послеоперационных осложнений, как это уже отмечалось выше для различных сердечно-сосудистых осложнений, демонстрировали отчетливую связь с уровнями СКФ во всех лечебных группах – от 1 до 4. Так, в 1 и 2 группах, где применялись система VАС -дренирования или ультразвуковая кавитация ран, продолжительность пребывания в стационаре и процент послеоперационных

осложнений среди лиц с СКФ ≥ 60 мл/мин (соответственно, 27,8 (3,8) койко-дней и 9,2 (2,6)%) были значительно ниже, чем у больных с СКФ в пределах 30-59 мл/мин (соответственно, 34,2 (3,3) койко-дней и 13,1 (2,8)%) и, особенно, с СКФ < 30 мл/мин (соответственно, 43,4 (3,9) койко-дней и 16,7 (3,4)%), все $p < 0,001$. Подобные этому различия в результатах лечения имели место и в группах 3 (лазеро- и озонотерапии) и 4 (стандартные лечебные подходы), все $p < 0,001$.

Полученные данные о связи диабетической нефропатии с особенностями клинической картины и тяжестью СДС, а также о зависимости результатов лечения больных с СДС от уровня СКФ позволяют говорить о взаимосвязи различных микрососудистых осложнений диабета между собой и об их взаимном неблагоприятном воздействии друг на друга. Эти результаты также подтверждают необходимость своевременного использования современных подходов к ренопротекции у лиц с СДС (а также у всех больных с СД в целом), что несомненно позволит улучшить результаты их комбинированного лечения.

Исследование роли факторов роста в патофизиологических процессах репарации язвенных дефектов при СДС является актуальными при различных методах лечения.

В исследование были включены 125 (15,8 (1,5)%) пациентов с СДС от общего числа больных. В качестве контрольной группы были исследованы 30 человек, которые могли быть отнесены к категории здоровых лиц.

В зависимости от выбора методов лечения были выделены 4 группы: 1-я группа с применением VAC-терапии (35 больных); 2-я группа (30 больных) – с УЗ-кавитацией; 3-я группа – с озоно- и лазеротерапией и интерактивными повязками (30 больных), 4-я группа (30 больных) с традиционным лечением без применения методов физического воздействия на раневой процесс.

Анализ уровня фактора роста VEGFA у больных с СДС до лечения показал его достоверное увеличение в 8,65 раза ($p < 0,001$) в сравнении с группой контроля. Наиболее выраженная экспрессия VEGFA, по нашему мнению, была вызвана длительными повреждениями тканей стопы, связанными с прогрессирующими

гипоксией и ишемией на фоне метаболических нарушений в ране и на фоне диабетической микро- и макроангиопатии.

После лечения больных с СДС содержание VEGFA достоверно уменьшалось до значений 210 (170;230) мЕ/мл, что было ниже в 3,3 раза по сравнению с показателями до лечения ($p<0,001$), но по отношению к группе контроля являлось достоверно увеличенным в 2.63 раза ($p<0,001$), свидетельствуя о присутствии тканевой гипоксии, инициирующей продукцию VEGFA, запускающего неоангиогенз, но в меньшей степени.

Было установлено, что диапазон минимальных и максимальных значений VEGFA находился в пределах 480-2000 мЕ/мл. Анализ клинико-лабораторных данных пациентов с СДС показал, что практически у половины больных (45,83 %) регистрировали 10-кратное увеличение содержание VEGFA по сравнению с контрольным уровнем. Характерным для данной категории больных являлось значительное увеличение показателей HbA1c.

Проведенный корреляционный анализ зависимости VEGFA от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС показал наличие сопряженности с длительностью заболевания СД и уровнем HbA1c. Так, длительность заболевания СД составила 10 (10; 15) лет, min – до 1 года, max – 52 года и имела прямую корреляционную связь с концентрацией VEGF: чем дольше была длительность СД, тем выше уровень VEGFA ($r=0,55$; $p=0,005$), что согласовывалось с данными. Уровень HbA1c до лечения составил 8,8 (7,8-9,5) ммоль/л, после лечения – 8,3 (7,67-8,67) ммоль/л, корреляционная связь с VEGFA до лечения являлась достоверной ($r=0,53$; $p=0,006$), после лечения – отсутствовала ($r=0,13$; $p=0,6$), что объяснялось эффективным лечением пациентов и контролем за нормализацией уровня глюкозы и гликированного гемоглобина.

При анализе уровня PDGF-BB у больных с СДС до лечения выявлено его достоверное увеличение в 2 раза ($p<0,001$) в сравнении с группой контроля.

После лечения больных с СДС содержание PDGF-BB достоверно увеличивалось до значений 72,83 (65,65;80,23) нг/мл, что было в 1,26 раза выше по сравнению с показателями фактора до лечения ($p<0,001$), и достоверно

увеличивалось в 2,58 раза ($p < 0,001$), по сравнению с контролем, свидетельствуя о постоянной коагуляции в ране с дегрануляцией тромбоцитов, гипоксии, стимулирующей синтез PDGF-BB для привлечения клеток, ответственных за процессы репарации.

Сравнительный анализ уровней TGF- β 1 у больных с СДС до лечения и в группе контроля показал достоверное увеличение фактора роста в 1,37 раза ($p < 0,001$).

После лечения пациентов с СДС, по сравнению с периодом до лечения, содержание TGF- β 1 достоверно увеличилось в 1,4 раза ($p < 0,001$) с медианными значениями 35495 (32174,5; 37915,5) пг/мл, что почти в 2 раза превышало уровень ростового фактора в сравнении с контролем ($p < 0,001$). Данная реакция экспрессии TGF- β 1 свидетельствовала о его активном участии в пролиферативной фазе процесса заживления ран, связанной с делением и дифференцировкой клеток дифферона фибробластов с последующим синтезом коллагена, эластина и компонентов внеклеточного матрикса.

Далее была исследована реакция факторов роста VEGFA, PDGF-BB, TGF- β 1 в ходе лечения различными физическими методами воздействия на раневой процесс, что позволило оценить эффективность лечения с учетом патогенетических звеньев молекулярных механизмов процесса заживления язв. Несмотря на большое количество исследований роли ростовых факторов в заживлении при СД, не сформировано единых подходов в оценке комплексности и последовательности влияния этих веществ в патофизиологии раневого процесса при диабетических язвах.

Распределение показателей VEGFA сыворотки пациентов с СДС на фоне лечения, установленное с помощью критерия Крускала-Уоллиса, имело достоверные различия ($p < 0,001$) и демонстрировало наибольшие медианные значения фактора 435 (379;487,25) мЕ/мл в 4-й группе с традиционными подходами в лечении и достоверным превышением контрольного уровня в 5,45 раз ($p < 0,001$). В 1-й, 2-й и 3-й группах применение методов физического воздействия в лечении ДЯС сопровождалось существенным снижением уровня

VEGFA в 2,15, в 1,94 и в 2,8 раза ($p<0,001$) соответственно, в сравнении с группой контроля. Сравнивая уровни VEGFA в 1-й, 2-й и 3-й группах с показателями 4-й группы, установлено его достоверное уменьшение в 2,55, 2,8 и 2 раза ($p<0,001$) соответственно. Данный факт свидетельствовал о тенденции восстановления продукции VEGFA до уровня, стимулирующего эффективный неоангиогенез и пролиферацию эндотелиальных клеток для увеличения диаметра сосудов и скорости кровотока, что приводило к сокращению сроков заживления язв. Применение лазеро- и озонотерапии отличалось значимым превышением содержания VEGFA в 1,3 и 1,43 раза ($p<0,001$), в сравнении с 1-й и 2-й группами соответственно, и сопровождалось замедленным течением заживления диабетических язв.

Таким образом, уменьшению сроков заживления ран с сокращением размеров способствовали применение VAC-терапии и УЗ-кавитации за счет формирования грануляционной ткани, усиления локальной гемодинамики и пролиферации покровного эпителия кожи. Результатом лечения явилось достоверное снижение уровня VEGFA в 4 раза ($p<0,001$), по сравнению с периодом до лечения, при этом сохранялось его 2-кратное значимое увеличение ($p<0,001$), по сравнению с группой контроля, что являлось необходимой концентрацией для эффективного неоангиогенеза и пролиферации при заживлении диабетических язв.

Установлена связь содержания PDGF-BB с методами лечения ДЯС у больных с СДС с помощью критерия Краскела-Уоллеса ($H=35,36$; $p<0,001$). При этом сравнение содержания PDGF-BB между группами соответствовало общей тенденции – увеличению в 2,6 раза, 2,14 раза, 1,9 и 1,6 раза ($p<0,001$) в 1-4-й группах соответственно, по сравнению с контролем. В 4-й группе больных с традиционным лечением ран повышение уровня PDGF-BB в 1,6 раза свидетельствовало о слабом стимулирующем влиянии данного фактора на процессы митогенеза и пролиферации недифференцированных форм дифферона фибробластов. При этом диабетические язвы при лечении традиционными методами имели клинические проявления хронического воспаления с

единичными грануляциями, расположенными по краям раны, дно раны заполнено отечной тканью темно-красного цвета и отложениями фибрина. Максимальное значимое увеличение содержания PDGF-BB в 2,6 раза, 2,14 раза в группах с VАС-терапией и УЗ-кавитацией свидетельствовало о более активном развитии воспалительных реакций в лечении ДЯС с преобладающей экспрессией при действии VАС-терапии в сравнении с другими методами дополнительного физического воздействия.

У больных с СДС уровень TGF-1 β был статистически достоверно увеличен в 1,5 раза, в 2 раза, в 1,9 раза и в 1,8 раза ($p < 0,001$) в 1-4-й группах, соответственно, по сравнению с контролем, свидетельствуя об активном участии фактора роста в образовании грануляционной ткани, формировании межклеточного вещества с разрастанием коллагенового матрикса. Сравнение показателей TGF-1 β во 2-й, 3-й и 4-й группах с 1-й группой пациентов показало значимое превышение его уровня в 1,4–1,2 раза, что подтверждало эффективность применения дополнительных методов физического воздействия на восполнение раневого дефекта грануляционной тканью. Максимальное содержание TGF-1 β регистрировали во 2-й группе при применении VАС-терапии, что сопровождалось ускоренной пролиферацией фибробластов, дифференцировкой их в миофибробласты с сокращением раневого дефекта, синтезом коллагена и компонентов основного вещества соединительной ткани.

Применение традиционного лечения ДЯС сопровождалось незначительным превышением содержания TGF-1 β и клинически проявлялось замедлением процесса заживления ран в виде отсутствия активно заполняющих раны грануляций и замедлению сокращения раны.

Сравнение уровней TGF-1 β в группе больных с применением УЗ-кавитации с группой с лечением лазеро- и озонотерапией показало отсутствие различий ($p = 0,16$), что объяснялось эффективными стимулирующими механизмами методов физического воздействия на пролиферативную активность грануляционной ткани при лечении диабетических язв.

В свете современных подходов к лечению СДС с иммуномодулирующим влиянием особенно важным является изучение состояния цитокиновой системы, как при формировании СДС в условиях дисбаланса метаболических нарушений, так и при различных вариантах хирургического лечения с активным использованием методов физического воздействия.

При анализе показателей цитокинов как про- так и противовоспалительного действия в крови больных с СДС в периоде до начала лечения установлено существенное статистически достоверное увеличение в сравнении с группой контроля: $\text{INF}\gamma$ в 14,66 раз, $\text{IL-1}\beta$ в 17,15 раз, $\text{TNF}\alpha$ в 14,16 раз, IL-6 в 6,7 раз, IL-10 в 1,63 раза ($p < 0,001$). Наиболее значительной на развитие язвенно-некротического процесса при СДС была отмечена реакция цитокинов $\text{INF}\gamma$, $\text{IL-1}\beta$, $\text{TNF}\alpha$ и IL-6 , что, вероятно, обусловлено включением защитной реакции на действие патогенных факторов раневого содержимого, активацией и привлечением в очаг воспаления нейтрофилов, тканевых базофилов, эозинофилов и моноцитов-макрофагов, стимуляцией синтеза острофазовых белков и т.д. Содержание цитокина IL-10 регуляторного и противовоспалительного действия демонстрировало невыраженное, хотя и достоверное увеличение, что было связано с фазой гидратации раневого процесса с присутствием в ране некротизированных участков, воспалительного экссудата, отека с протеолитическими ферментами и нарушениями гемо- и лимфомикроциркуляции.

Оценивая динамику содержания цитокинов после лечения в группе больных в целом, при сравнении с результатами, полученными до лечения с помощью критерия Вилкоксона, обнаружено достоверное снижение уровня $\text{INF}\gamma$ в 7,34 раза, $\text{IL-1}\beta$ в 4,4 раза, $\text{TNF}\alpha$ в 10,24 раза и IL-6 в 3,2 раза ($p < 0,001$, для всех наблюдений). Завершение фазы гидратации раневого процесса с участием макрофагов и очищением раны сопровождалось активацией следующего этапа заживления раны с пролиферацией фибробластов, ответственных за синтез коллагеновых волокон и компонентов основного вещества соединительной ткани. Достоверное увеличение продукции цитокина IL-10 после лечения в 2,9 раза ($p < 0,001$) указывало на усиление регуляторного влияния, направленное

супрессорное действие на подавление иммунной реакции для обеспечения ее контроля, что являлось отражением активации процессов пролиферации и заживления ран.

Распределение показателей концентрации $\text{INF}\gamma$ в исследуемых группах являлось статистически достоверным и было установлено с помощью критерия Краскела-Уоллиса ($H=68,9$; $p<0,001$). Различия в содержании $\text{INF}\gamma$ между 4-й группой и 1-й, 2-й и 3-й группами были значимыми, демонстрируя снижение цитокина в 1,2-1,37 раза ($p<0,001$).

Сравнение уровней $\text{INF}\gamma$ в 1-4-й группах с контрольным уровнем показало достоверное максимальное увеличение цитокина в 2,26 раза в 4-й группе с традиционным лечением ДЯС ($p<0,001$). В 1-3-й группах больных содержание $\text{INF}\gamma$ статистически значимо превышало контрольный уровень в 1,78-2,06 раза ($p<0,001$), что указывало на сохраняющуюся увеличенную фагоцитарную активность макрофагов в группе с традиционным лечением и, следовательно, замедленное течение фазы гидратации и раневого процесса в целом. Применение VАС-терапии и УЗ-кавитации сопровождалось практически равным синтезом $\text{INF}\gamma$, что подтверждалось отсутствием достоверного различия ($p=0,13$), свидетельствуя об эффективном лечении ран данными методами с участием реакций клеточного иммунитета в направлении активации фагоцитоза макрофагами и процессов пролиферации фибробластов.

Аналогичная ситуация была установлена и с динамикой показателей цитокинов провоспалительного действия $\text{IL-1}\beta$. Распределение уровней $\text{IL-1}\beta$ в 1-4-й группах являлось статистически достоверным и было установлено с помощью критерия Краскела-Уоллиса ($H=72,2$; $p<0,001$). На фоне лечения содержание $\text{IL-1}\beta$ увеличивалось в 3,5-5,5 раз, в сравнении с контролем с максимумом в 4-й группе ($p<0,001$), указывая на пролонгированную выраженную реакцию неспецифической защиты с участием полиморфно-ядерных лейкоцитов при традиционном лечении диабетических язв. В 1-й и 2-й группах превышение $\text{IL-1}\beta$ в 3,5 и 3,9 раз ($p<0,001$), по сравнению с контролем, свидетельствовало о купировании воспалительных реакций в ранах, переходом к стадии дегидратации

с преобладанием профиброгенного влияния на пролиферацию эндотелия и фибробластов при активном участии макрофагов. Эффективность применения VАС-терапии и УЗ-кавитации подтверждалась отсутствием достоверного различия в содержании IL-1 β между группами ($p=0,57$). Применение лазеро- и озонотерапии сопровождалось увеличением IL-1 β в 1,25 раза ($p=0,008$), по сравнению с 1-й группой, что отражало медленное течение заживления ран с участием воспалительных клеток в процессах экссудации и эмиграции.

Распределение TNF α в группах больных после лечения являлось статистически достоверным ($H=67,17$; $p<0,001$). Содержание TNF α в 1-4-й группах значимо превышало контрольный уровень в 1,6-3,9 раз

В 4-й группе наблюдали максимальный подъем TNF α , по сравнению с контролем (в 3,9 раза ($p<0,001$)), что указывало на активное течение альтеративно-экссудативной фазы воспаления в диабетических ранах, характерное для стадии гидратации раневого процесса. Учитывая то, что TNF α вырабатывается нейтрофилами, эндотелиоцитами, макрофагами, Т- и В-лимфоцитами и является интегративным цитокином воспалительного и иммуномодулирующего действия, по его динамике можно судить о регуляторной роли в неспецифической и адаптивной защите. Повышение концентрации TNF α свидетельствовало об усилении цитотоксического эффекта против деструктивных и инфицированных участков раны, активации нейтрофилов, макрофагов, синтеза провоспалительных цитокинов, белков острой фазы воспаления. Применение VАС-терапии и УЗ-кавитации в 1-й и 2-й группах сопровождалось небольшим, но достоверным увеличением TNF α в 1,6-1,85 раза с купированием воспалительного альтеративно-экссудативного компонента, демонстрируя эффективность лечения с переходом раневого процесса к стадии дегидратации и пролиферации. Применение лазеро- и озонотерапии в 3-й группе приводило к значимому повышению содержания TNF α в 2,3 раза, по сравнению с контролем, а также значимому увеличению, по сравнению с 1-й группой ($p=0,003$) и 2-й группой ($p=0,024$), что указывало на более выраженные провоспалительные реакции и замедление процесса очищения ран.

Установлена связь между показателями концентрации маркера провоспалительных реакций IL-6 и методами лечения ДЯС с помощью критерия Краскела-Уоллиса со статистической достоверностью ($N=62,44$; $p<0,001$). Содержание IL-6 в 1-4-й группах значимо превышало контрольный уровень в 1,75-3,16 раз соответственно.

Максимальное увеличение уровня IL-6 до 20,58 (17,94;22,9) пг/мл наблюдалось в 4-й группе с традиционным лечением.

Сравнение уровней IL-6 в 1-2-й группах с показателями в 4-й группе показало достоверное снижение цитокина в 1,8 раза ($p<0,001$) и 1,5 раза ($p<0,001$), свидетельствуя об уменьшении активности стадии альтеративно-экссудативного воспаления, эндотелиального повреждения и эмиграции лейкоцитов. При этом в 1-й группе с VАС-терапией стабилизация воспалительного процесса проходила активнее, чем при УЗ-кавитации ($p=0,005$). Иммунореактивность, связанная с продукцией IL-6 в 3-й группе с лазеро- и озонотерапией выражалась в сохранении достаточно высокого уровня IL-6, превышающего значения в 1-й и 2-й группах, указывая на незначительное влияние на провоспалительные реакции при использовании данного метода физического воздействия. Небольшое, но достоверное снижение уровня IL-6 в 1,2 раза в 3-й группе, по сравнению с 4-й группой ($p<0,001$), объяснялось позитивным воздействием лазеро- и озонотерапии на течение воспалительного процесса в ранах, но с менее выраженным эффектом, чем при использовании VАС-терапии и УЗ-кавитации. Применение методов физического воздействия для лечения ДЯС вызывало уменьшение отека и инфильтрации интерстициальной ткани полиморфно-ядерными лейкоцитами, очищение ран от фибринозно-гнойного детрита, увеличение сосудистой проницаемости. Однако наличие повышенного синтеза IL-6, вероятно, оказывало регуляторное влияние на активацию и пролиферацию макрофагов, которые инициировали привлечение фибробластов для формирования грануляционной ткани с внеклеточным матриксом и неоваскулогенезом, ускоряя заживление ран.

Распределение показателей IL-10 в группах больных после лечения, установленное с помощью критерия Краскела-Уоллиса являлось статистически

достоверным ($H=83,28$; $p<0,001$). Содержание IL-10 в 1-4-й группах значимо превышало контрольный уровень: в 1-й группе – в 5,48 раз, во 2-й – в 4,1 раза, в 3-й – в 3,83 раза, в 4-й – в 3,35 раза.

Увеличение содержания IL-10 в 4-й группе отличалось менее выраженными значениями по сравнению с группами с применением методов физического воздействия в лечении диабетических ран. Так, в 1-й и 2-й группах уровень IL-10 достоверно превышал показатели 4-й группы в 1,64 и 1,44 раза ($p<0,001$) соответственно. Межгрупповые сравнения величин IL-10, проведенные с помощью критерия Манна-Уитни, показали существенные отличия уровня цитокина в 1-й группе ($p<0,001$), что отражало наиболее активное участие протективных механизмов в патогенезе воспаления в раневых дефектах при назначении VAC-терапии. Применение УЗ-кавитации, лазеро- и озонотерапии также сопровождалось увеличением IL-10, но имело достоверно меньшие значения по сравнению с 1-й группой ($p<0,001$).

Для выяснения связи факторов роста VEGFA, PDGF-BB и TGF- 1β с клинико-диагностическими показателями больных с СДС, такими как длительность заболевания СД, тяжесть состояния при поступлении, степень выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровень ЛПНП, Hb_{A1c} , $INF\gamma$, IL- 1β , $TNF\alpha$, IL-6 и IL-10 до и после лечения, был проведен корреляционный анализ Спирмена.

Так, длительность заболевания СД составила 10 (10;15) лет, min – до 1 года, max – 52 года и имела прямую корреляционную связь с концентрацией VEGFA: чем больше была длительность СД, тем выше уровень VEGFA ($R=0,55$; $p=0,005$).

Степень выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру составила при поступлении 2 (1;3) балла, после лечения при выписке – 1 (0-2) балла. Корреляционным анализом показана высокая достоверная связь с уровнем VEGFA как до ($R=0,69$; $p=0,001$), так и после лечения ($R=0,83$; $p<0,001$), что указывало на прямую зависимость структурно-функциональных нарушений мягких тканей и концентрации VEGFA.

Корреляционный анализ выявил обратную связь средней силы показателя ЛПИ с VEGFA ($R=-0.45$; $p=0,031$): чем ниже были значения ЛПИ, тем выше уровень VEGFA. До лечения ЛПИ составил 0,8 (0,7;1,0), после лечения отмечали его небольшое увеличение до 0,9 (0,8;1,1), однако корреляционная связь с VEGFA отсутствовала ($R=0.23$; $p=0,52$), что свидетельствовало о выраженной степени ремоделирования стенки артериальных сосудов нижних конечностей.

Уровень ЛПНП до лечения имел значительное превышение с медианой 5,5 (4,6-7,3) ммоль/л, после лечения регистрировали некоторое снижение ЛПНП до 5,1 (4,2-7,1) ммоль/л. Данные значения имели высокую прямую корреляционную связь с VEGFA в начале лечения ($R=0,91$; $p<0,001$) и при выписке ($R=0,704$; $p<0,001$), что было связано с прогрессированием осложнений СД в виде нарушения липидного обмена с увеличением синтеза ЛПНП, отложением атеросклеротических бляшек на стенках сосудов. Вероятно, повреждение эндотелия вызывало гиперпродукцию VEGFA и являлось адаптационным механизмом, направленным на стимуляцию неоангиогенеза в условиях воспаления и облитерации сосудистой стенки.

У больных с СДС до лечения корреляционным анализом установлены достоверные связи между уровнем VEGFA и содержанием провоспалительных цитокинов $INF\gamma$ ($R=0,48$; $p=0,008$), $IL-1\beta$ ($R=0,54$; $p=0,002$), $TNF\alpha$ ($R=0,51$; $p=0,004$) и $IL-6$ ($R=0,86$; $p<0,001$), динамика исследованных цитокинов и VEGFA имела однонаправленный характер и отражала их участие в реализации реакций воспаления и ангиогенеза. С уровнем противовоспалительного цитокина $IL-10$ достоверной связи не обнаружено ($R=-0,29$; $p=0,11$), что связано, на наш взгляд, с небольшой концентрацией и минимальными различиями $IL-10$ у больных с диабетическими язвами до лечения.

После лечения анализ связи VEGFA с уровнями цитокинов показал, что снижение концентрации VEGFA ассоциируется с $INF\gamma$ ($R=0,42$; $p=0,026$) и $IL-6$ ($R=0.64$; $p=0,002$) и $IL-10$ ($R=-0,49$; $p=0,005$). А на показатели $IL-1\beta$ ($R=0,29$; $p=0,12$) и $TNF\alpha$ ($R=0,31$; $p=0,10$) динамика VEGFA не оказывала значимого

влияния, что было обусловлено снижением реакции провоспалительных цитокинов после лечения.

Корреляционный анализ зависимости PDGF-BB от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС показал наличие связи с длительностью заболевания СД, тяжестью состояния при поступлении, степенью выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровнем ЛПНП, Hb_{A1c} , $INF\gamma$, $IL-1\beta$, $TNF\alpha$, $IL-6$ и $IL-10$. Зависимость уровня PDGF-BB от продолжительности заболевания СД имела сильную обратную связь ($R=-0,75$; $p<0,001$), т.е., чем меньше была концентрация PDGF-BB, тем более длительное течение СД. Характер связи между уровнем PDGF-BB и тяжестью состояния больных также имел достоверную отрицательную связь ($R=-0,86$; $p<0,001$), демонстрируя угнетение синтеза тромбоцитарного фактора роста и его слабовыраженное влияние на процессы заживления диабетических ран. Об этом свидетельствовало увеличение степени выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру до лечения при слабой экспрессии фактора PDGF-BB с обратной зависимостью между ними ($R=-0,65$; $p<0,001$). После лечения больных с СДС корреляционным анализом установлено наличие обратной связи между уровнем PDGF-BB и степенью выраженности поражения мягких тканей стопы по Вагнеру ($R=-0,45$; $p=0,013$). Увеличение концентрации PDGF-BB значимо влияло на уменьшение раневых дефектов с корреляционной связью меньшей силы

Корреляционным анализом установлена связь средней силы показателя ЛПИ с PDGF-BB до лечения ($R=0,51$; $p=0,005$), после лечения связь имела бóльшую степень силы ($R=0,69$; $p<0,001$): чем выше был уровень PDGF-BB, тем значительнее возрастал ЛПИ. Протективное влияние методов физического воздействия при СДС на продукцию тромбоцитарного фактора выражалось в противовоспалительном и митогенном эффектах при заживлении ран, уменьшении атеро- и тромбогенного влияния на эндотелий.

Достоверная корреляционная связь установлена между уровнями PDGF-BB и ЛПНП как до лечения ($R=0,76$; $p<0,001$), так и после лечения, но с обратной зависимостью ($R=-0,54$; $p=0,004$). Данный факт являлся отражением взаимосвязи

увеличенной продукции PDGF-BB со снижением содержания ЛПНП на фоне лечения.

Сопряженность PDGF-BB и Hb_{A1c} у больных с СДС до лечения имела достоверную отрицательную связь ($R=-0,5$; $p=0,005$). Высокий уровень Hb_{A1c}, несмотря на прослеживающуюся тенденцию снижения на фоне лечения, значимо коррелировал с обратной зависимостью с PDGF-BB ($R=-0,46$; $p=0,011$), показывая, что снижение и стабилизация Hb_{A1c} до нормального уровня наблюдается у пациентов с гиперпродукцией тромбоцитарного фактора.

Корреляционным анализом, определяющим зависимость PDGF-BB от концентрации провоспалительных цитокинов до лечения, продемонстрировано наличие связи средней силы: INF γ ($R=0,45$; $p=0,012$), IL-1 β ($R=0,51$; $p=0,004$), TNF α ($R=0,52$; $p=0,003$), IL-6 ($R=0,47$; $p=0,008$). Данный характер сопряженности, вероятно, был обусловлен увеличением содержания провоспалительных цитокинов у пациентов с превышением PDGF-BB. После лечения корреляционная связь между PDGF-BB и противовоспалительными цитокинами имела характер обратной средней силы, что объяснялось возрастанием продукции PDGF-BB и торможением альтеративно-экссудативной реакции со снижением уровня маркерных цитокинов воспаления: IL-1 β ($R=-0,42$; $p=0,021$), TNF α ($R=-0,54$; $p=0,002$), IL-6 ($R=-0,48$; $p=0,009$). Связь между PDGF-BB и INF γ отсутствовала ($R=-0,2$; $p=0,29$).

Для корреляционной зависимости PDGF-BB и противовоспалительного цитокина IL-10 до лечения характерным являлось наличие отрицательной средней связи ($R=-0,46$; $p=0,011$), что было обусловлено увеличенным синтезом PDGF-BB при низком содержании IL-10. После лечения характер корреляционной зависимости демонстрировал противоположную направленность: синтез PDGF-BB и IL-10 увеличивался с достоверной положительной связью ($R=0,59$; $p=0,001$).

Анализ корреляционной зависимости содержания TGF-1 β от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС при поступлении со степенью выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровнем ЛПНП, Hb_{A1c}, INF γ , IL-1 β , TNF α , IL-6 и IL-1.

Изученные характеристики, такие как продолжительность заболевания СД и тяжесть состояния пациентов до лечения, достоверно коррелировали с уровнем TGF-1 β с отрицательной связью средней силы ($R=-0,52$; $p=0,003$ и $R=-0,43$; $p=0,017$ соответственно), что свидетельствовало о достаточной взаимосвязи незначительной активности профиброгенного фактора TGF-1 β на метаболические и структурно-функциональные нарушения при прогрессировании заболевания. Следствием низкой продукции TGF-1 β являлось увеличение степени выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру до лечения, что подтверждалось наличием обратной зависимости ($R=-0,48$; $p=0,004$). После лечения реакция TGF-1 β характеризовалась гиперэкспрессией и увеличением активности процесса заживления диабетических ран, и, соответственно, снижением степени повреждения мягких тканей по Вагнеру, что имело признаки корреляционной зависимости с обратной связью ($R=-0,49$; $p=0,005$).

Установленная корреляционная связь между содержанием TGF-1 β и ЛПИ как до лечения ($R=0,49$; $p=0,005$), так и после него ($R=0,68$; $p<0,001$) демонстрировала зависимость увеличения ЛПИ от продукции TGF-1 β и связанной с ним пролиферативной активности.

Сопряженность TGF-1 β и Hb_{A1c} у больных с СДС до лечения имела достоверную отрицательную связь средней силы ($R=-0,44$; $p=0,014$), что отражало зависимость между нормальными и минимально повышенными показателями TGF-1 β и значительно увеличенным Hb_{A1c}. После лечения больных с СДС регистрировали интенсивный синтез TGF-1 β , что достоверно коррелировало со снижением Hb_{A1c} ($R=-0,48$; $p=0,004$). Вместе с тем контролируемое лечение гипергликемии и метаболических нарушений сопровождалось постепенным снижением уровня глюкозы и гликированного гемоглобина.

Корреляционным анализом, определяющим зависимость TGF-1 β от уровня ЛПНП, установлена прямая связь как до лечения ($R=0,53$; $p=0,003$), так и после него, но с обратной зависимостью ($R=-0,47$; $p=0,009$), что свидетельствовало о взаимосвязи увеличения содержания TGF-1 β с уменьшением ЛПНП на фоне лечения СД.

Анализ связи TGF-1 β с уровнями провоспалительных цитокинов в период до лечения показал отсутствие влияния с: INF γ (R=0,32; p=0,071), IL-1 β (R=0,29; p=0,078), TNF α (R=0,3; p=0,066), IL-6 (R=0,31; p=0,07), что было обусловлено незначительной продукцией TGF-1 β при наличии прогрессирующего воспаления с выраженным содержанием маркеров как неспецифической, так и специфической защиты. После лечения взаимосвязь TGF-1 β и провоспалительных цитокинов имела характер обратной зависимости: INF γ (R=-0,47; p=0,009), IL-1 β (R=-0,49; p=0,006), TNF α (R=-0,54; p=0,002), IL-6 (R=-0,61; p<0,001), что демонстрировало снижение воспалительной реакции и маркерных цитокинов при значительном увеличении TGF-1 β и интенсивном заживлении ран.

Методом корреляционного анализа достоверная связь между TGF-1 β и уровнем противовоспалительного цитокина IL-10 до лечения не установлена (R=0,34; p=0,06), напротив, после лечения связь демонстрировала значимую прямую зависимость: чем выше значения TGF-1 β , тем больше противовоспалительные реакции при заживлении ран (R=0,61; p<0,001).

Выполненный корреляционный анализ зависимости VEGFA, PDGF-BB, TGF-1 β от выраженности клинико-диагностических показателей у больных с СДС показал наличие сопряженности с длительностью заболевания СД, тяжестью состояния при поступлении, степенью выраженности повреждения мягких тканей по Вагнеру, ЛПИ, уровнем ЛПНП, Hb_{A1c}, INF γ , IL-1 β , TNF α , IL-6 и IL-10.

Нейросетевая модель прогнозирования послеоперационных осложнений ДЯС строилась на входных данных представленных набором факторных признаков для каждого пациента, а выходные – результатом предсказания вероятность возникновения послеоперационных осложнений. Для этого использовалась нейронная сеть на основе моделей класса «Sequential» из библиотеки для глубокого обучения «Keras», реализованная на программном языке «Python» третьей версии. Для обработки и анализа данных использовалась библиотека для поддержки высокоуровневых математических функций, предназначенных для работы с многомерными массивами «Numpy». Модель строилась на данных 782 историй болезни.

Варианты возможных послеоперационных осложнений, включенные в модель, были представлены следующими признаками: гематома, раневая инфекция, некроз окружающих тканей, кровотечение из раны.

После разделения полученного набора данных на множества для обучения и тестирования с помощью функции «train_test_split» с параметром test_size=0.1, было определено, что 10% данных (к общему количеству) было выбрано для тестирования модели, а оставшиеся 90% – для обучения.

Первый слой искусственной нейронной сети (ИНС) модели «Sequential» содержал информацию о размерности входных данных, передав аргумент input_shape со значением (5, 1), указывающий, что одномерный массив данных включал следующие признаки: тип диабета, степень по Вагнеру, пол и тяжесть состояния пациента при поступлении.

Далее в нейронной сети были созданы 4 скрытых полносвязных слоя, с функциями активации «selu», «relu», «sigmoid» и «softplus», а также выходной нейронный слой с функцией активации «softmax», выходом которого является вероятность возникновения того или иного осложнения в будущем. Выходные данные осложнения были закодированы следующим образом: 0 – условная вероятность возникновения гематомы, 1 – условная вероятность раневой инфекции, 2 – условная вероятность некроза окружающих тканей, 3 – условная вероятность расхождение краев раны, 4 – условная вероятность кровотечения из раны.

Для компилирования модели искусственной нейронной сети был использован оптимизатор «adam» с применением функции потерь «категориальная кросс-энтропия», в качестве метрической оценки модели были вычислены чувствительность, специфичность и точность.

Обучение модели искусственной нейронной сети осуществлялось на заранее подготовленном наборе данных с размером пакета обучения равным 8 и 64 эпохам. Для оценки чувствительности, специфичности и точности предсказаний был использован тестовый набор данных.

Для оценки эффективности модели из исходного множества данных (782) было случайно выбрано 48 случаев из обучающего множества и 48 случаев для тестового множества.

В результате проведенных расчетов на обучающем множестве было отнесено к 0-му виду осложнений 10 случаев из 12 или 83,3%, к 1-му виду осложнений – 10 случаев из 12 или 83,3%, ко 2 виду – 6 случаев из 8 или 75,0%, к 3-му виду осложнений – 7 случаев из 8 или 87,5% и наконец к 4-му виду осложнений – 8 случаев из 8 или 100%. При этом количество ложноположительных случаев при прогнозировании в среднем составило 10,8%, а ложноотрицательных случаев – 8,9%

При выполнении прогнозирования на тестовом множестве были получены следующие показатели: к 0-му виду осложнений было отнесено 10 случаев из 12 или 83,3%, к 1-му виду осложнений – 11 случаев из 12 или 91,7%, ко 2 виду – 6 случаев из 8 или 75,0%, к 3-му виду осложнений – 7 случаев из 8 или 87,5%, и наконец к 4-му виду осложнений – 6 случаев из 8 или 75,0%. При этом количество ложноположительных случаев при прогнозировании в среднем составило 17,5%, а ложноотрицательных случаев – 15,9%.

Таким образом, уровень чувствительности (Se) модели составил 82,5% (95%ДИ:79,5-85,3), специфичности (Sp) – 85,1% (95%ДИ:75,5-94,7) и точности – 82%(95%ДИ:80,1-83,9).

Сравнение доли ложноположительных случаев для контрольного и тестового множеств с помощью применения углового преобразования Фишера (с учетом поправки Йейтса) с двусторонней критической областью ($T=0,48$, число степеней свободы $k=18$) статистически значимого отличия контрольного и тестового множеств не было выявлено при $p=0,637$.

Таким образом, статистически значимых различий между показателями удельного веса ложноположительных и ложноотрицательных случаев на контрольном и тестовом множестве не выявлено.

Исходя из значений чувствительности и специфичности, была построена характеристическая кривая (ROC-кривая), величина площади под которой (AUC) составила 0,890.

Высокое значение коэффициента корреляции между прогнозируемыми показателями и исходными данными (при $R=0,913$ и $R^2=0,822$) свидетельствует о достаточной прогностической эффективности математической модели прогнозирования послеоперационных осложнений, созданной с применением искусственных нейронных сетей.

Далее была предпринята попытка разработки модели прогнозирования исхода лечения.

Для решения задачи прогнозирования исходов лечения были построены несколько математических моделей. В качестве входных параметров были выбраны параметры соматического и хирургического анамнеза – всего 14 факторов, которые либо присутствовали у больного (признак равен «1»), либо отсутствовали (признак равен 0), либо выражены количественными или порядковыми показателями.

Была поставлена задача прогнозирования нормального протекания лечебного процесса (прогнозируемая переменная принимает значение «1») и неблагоприятного протекания лечебного процесса с последующей инвалидизацией (прогнозируемая переменная принимает значение «2»). Модель строилась на данных 782 историй болезни.

При построении модели важнейшим фактором являлся отбор наиболее значимых входных факторов в модели и правильный выбор ее структуры (линейная, параболическая полиномиальная и т.д.).

При выборе наиболее значимых входных переменных модели разработаны специальные подходы: метод пошагового включения, метод пошагового исключения, методы смешанного типа. В последнее время для решения многих задач выбора переменных используют метод «генетический алгоритм».

На начальном этапе создания модели была построена логистическая многофакторная модель на 14-ти входных переменных с применением метода

пошагового принудительного включения переменных. Затем на втором этапе с применением метода пошагового выборочного исключения были отобраны 5 переменных («Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулинотерапия»). И в завершении на 3-м этапе моделирования методом пошагового исключения было отобрано всего 3 переменные («Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней»).

Выходную переменную обозначали через «ИЛ 1».

В 1-й модели значение коэффициента множественной корреляции (R) составляет 0,960, а скорректированное значение коэффициента детерминации (R^2) – 0,922. Значение F -критерия в первой модели было на уровне 834,1 при $p=0,0001$. Скорректированное значение коэффициента детерминации показывает незначительное сокращение предсказательной мощности модели, которое практически не отличается от грубого значения коэффициента детерминации R^2 (0,930), которое говорит нам о том, какая доля вариабельности результирующего фактора может быть объяснена регрессионной моделью, построенной на данных приведенной выборки. А скорректированное значение коэффициента детерминации показывает, какую долю вариабельности результирующего фактора объясняла бы эта модель, если бы она была построена на данных всей популяции, из которой была извлечена выборка.

Значение критерия Дарбина-Уотсон составило 1,907, что достоверно приближается к 2,0, а коэффициент сериальной корреляции остатков и результирующей переменной равен 0,0289 или приближается к 0, что подтверждает нулевую гипотезу об отсутствии влияния остатков регрессионной кривой на результирующий и факторные признаки.

Расчет результатов прогнозирования показателя «ИЛ 1» на приведенном множестве показал, что случаи с истинноположительным результатом составили 91,3%, а случаи с истинноотрицательным результатом – 57,9%. В связи с этим расчетные показатели чувствительности модели составили 98,4%(95%ДИ:99,1-

94,5), а специфичности – 83,1% (95%ДИ: 94,1- 71,0). Точность предсказания модели составила 96,9 % (95%ДИ: 94,4- 98,7).

На следующем 2-м этапе моделирования методом пошагового выборочного исключения факторов в уравнение логистической регрессии было отобрано 5 переменных: «Тип СД», «Тяжесть заболевания при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличия осложнений», «Инсулинолечение». Выходную переменную обозначали через «ИЛ2».

Во 2-й модели значение множественного коэффициента корреляции (R) составляет 0,972, множественный коэффициент детерминации – 0,944 и скорректированное значение коэффициента детерминации (R^2) – 0,940. Значение F-критерия в первой модели составило 1497,1 при $p=0,001$, что почти в 1,79 раза выше, чем в 1-й модели. Скорректированное значение коэффициента детерминации в модели 2 статистически не отличается от грубого значения R^2 в модели №№ 1 и 2.

Расчет результатов прогнозирования показателя «ИЛ 2» на приведенном множестве показал, что случаи с истинноположительным результатом составили 98,8%, а случаи с истинноотрицательным результатом – 84,4%. В связи с этим расчетные показатели чувствительности модели составили 98,8 (95%ДИ: 97,9 - 99,5), а специфичности – 84,4 (95%ДИ: 75,4- 91,7). Точность предсказания модели составила 89,6% (95%ДИ: 95,3 - 99,7).

Анализ качества модели показал на достаточно высокие прогностические способности многофакторной линейной модели на 5 признаках, при этом без ухудшения основных регрессионных показателей.

Расчет статистик и оценка остатков моделей с применением метода расчета критерия Дарбина-Уотсон и сериальной корреляции остатков выявил, что коэффициент Дарбина-Уотсон принимал значение 1,95 для 2-й модели, что практически не отличается от 1-й модели (1,907), при этом коэффициент сериальной корреляции был на уровне 0,015 (в 1-й модели 0,0289). Это подтверждает гипотезу, которая указывает на отсутствие автокорреляции остатков, результирующего и факторных признаков в модели 2.

На следующем, 3-м, этапе моделирования методом пошагового исключения факторов для уравнения многофакторной регрессии были отобраны 3 переменные: «Тип СД» (X_1), «Тяжесть состояния пациента при поступлении» (X_2), «Количество койко-дней» (X_3). Выходную переменную обозначали через «ИЛ 3».

Расчет статистик и оценка остатков моделей с применением метода расчета и оценки критерия Дарбина-Уотсон и сериальной корреляции остатков выявил, что коэффициент Дарбина-Уотсон принимал значение 1,912 для 3 модели, что практически не отличается от показателя для 2-й модели (1,95), при этом, коэффициент сериальной корреляции был на уровне 0,027 (во 2-й модели 0,015). Это подтверждает гипотезу, которая также указывает на отсутствие в модели 3 автокорреляции остатков, результирующего и факторных признаков.

Расчет результатов прогнозирования показателя «ИЛ 3» на приведенном множестве показал, что случаи с истинноположительным результатом составили 97,3%, а случаи с истинноотрицательным результатом – 89,6%. В связи с этим расчетные показатели чувствительности модели были на уровне 97,3% (95%ДИ: 96,0-98,4), а специфичности – 89,6% (95%ДИ: 81,7- 95,5). Точность предсказания модели составила 96,5 % (95%ДИ: 94,2- 98,6).

Анализ качества модели указывает на достаточно высокие прогностические способности многофакторной биномиальной модели на 3 признаках, при этом без ухудшения основных регрессионных показателей.

Таким образом, многофакторные логистические модели показали высокую чувствительность при прогнозировании показателя «Исход лечения», при этом уменьшение числа входных признаков до 3-х не снижают прогностические способности модели .

Процесс эффективности модели предполагает также проверку точности прогнозирования зависимого предиктора на независимом тестовом множестве.

Для оценки эффективности модели из исходного множества данных (782) было случайно выбрано 129 случаев для контрольного множества и 24 случая для тестового множества.

В результате проведенных расчетов с применением регрессионного уравнения модели 2 на контрольном множестве (множество, которое включалось в общую совокупность для расчета разных видов моделей) было отнесено к классу «0» 33 случая из 34 или 97,1%, а к классу «1» – 92 случая из 95 или 96,8%. При этом количество ложноположительных случаев при прогнозировании составило 3,2%, а ложноотрицательных случаев – 2,9%. При выполнении прогнозирования на тестовом множестве были получены следующие показатели: отнесено к классу «0» 21 случай из 22 или 95,5%, а к классу «1» – 19 случаев из 20 или 95,0%. Количество ложноположительных случаев при прогнозировании составило 5,0%, а ложноотрицательных – 4,5%.

При сравнении доли ложноположительных случаев для контрольного и тестового множеств с помощью применения углового преобразования Фишера (с учетом поправки Йейтса) с двусторонней критической областью ($T=0,44$, число степеней свободы $k=54$) статистически значимого отличия не выявлено при $p=0,662$.

При проведении сравнения доли ложноотрицательных случаев для двух множеств с помощью углового преобразования Фишера (с учетом поправки Йейтса) с двусторонней критической областью ($T=0,28$, число степеней свободы $k=113$) статистически значимого отличия также не выявлено при $p=0,780$.

Следовательно, статистически значимых различий между показателями удельного веса ложноположительных и ложноотрицательных случаев на контрольном и тестовом множестве не было выявлено.

Решение задачи прогнозирования показателя «Степень поражения по Вагнеру» было осуществлено с помощью построенной математической модели на основе ИНС. Модель строилась на данных 125 исследований, в которых приведены данные о факторах роста, степени поражения конечности по Вагнеру.

В качестве входных предикторов были выбраны 3 независимых предиктора (TGF-1 β , PDGFBB, VEGF), которые отображали основные показатели факторов роста, и носили количественный характер. В качестве зависимой переменной, то есть критерия прогнозирования или отклика, использовали переменную величину,

характеризующую степень поражения конечности по Вагнеру, которые принимали значение 1 – «1 степень », 2 – «2 степень », 3 – «3 степень».

После процедуры стандартизации базы данных (удалены пропущенные ячейки, округлены количественные показатели) была подготовлена матрица данных для построения математической модели на основе ИНН, при этом все случаи были разбиты случайным образом на 2 подмножества: обучающее (70% случаев) и контрольное (30% случаев).

При построении модели были использованы стандартные способы нейросетевого моделирования путем создания сети МЛП (Multilayer Perceptron Network – многослойный линейный персептрон), которые позволяют строить высококачественные модели, при этом не учитывая заранее характер ее структуры (характер структуры ИНН определился автоматически с применением стандартного пакета «SPSS Statistics» v.21).

На этом наборе данных (125 случаев) была построена нейросетевая модель для прогнозирования «Степень поражения по Вагнеру» (многослойный персептрон с одним входным слоем, одним скрытым слоем и одним выходным слоем – 5 персептронов).

Обучение нейросетевой модели проводилось как пакетное с применением метода градиентного спуска. Для расчета регрессионных коэффициентов применялись градиентные методы: метод сопряженных градиентов и методы переменной метрики.

Анализ данных о построенных нейросетевой модели прогнозирования «Степень поражения по Вагнеру» показал, что нейросетевая модель, которая была построена на 3-х входных факторах (TGF-1 β , PDGF-BB и VEGF) обладает высокой надежностью. Об этом говорит достаточно высокий процент корректных предсказаний на обучающей выборке (98,8%), высокий процент корректных предсказаний на контрольной выборке (100%), отсутствие ошибок на контрольной выборке (по 0,0%), отсутствие ложноположительных и ложноотрицательных случаев прогнозирования на контрольной выборке (0,0%).

Данная модель позволяет с большой вероятностью предсказывать значения результирующего предиктора «Степень поражения по Вагнеру».

Нейросетевая модель показала при прогнозировании зависимого предиктора «Степень поражения по Вагнеру» достаточно высокую чувствительность (98,8%) и специфичность (100%). Так, процент корректных предсказаний прогнозируемого фактора «Степень поражения по Вагнеру» на контрольной выборке (100%) указывает на высокую точность предсказаний (98,8%).

При анализе влияния (важности) отмеченных входных факторов на прогнозирование исхода в таблице 2 приведены значения нормализованной важности (в %) входных переменных в рамках модели. Ранжирование нормализованной важности независимых переменных проводилось путем ранжирования ошибок моделирования при замене каждой из ранжируемых переменных на ее среднее по обучающему множеству значение. Чем больше увеличивается, в этом случае, ошибка по сравнению с полной моделью, тем большая важность независимых переменных указанной переменной.

Хотелось бы обратить внимание на высокую важность входного признака «PDGF-BB», который имеет самое высокое значение – 98,2%. Этот же признак оказывает влияние на риск возникновения более тяжелой степени поражения стоп по Вагнеру, что косвенно подтверждает статистическую значимость факторных переменных при прогнозировании исходного показателя «Тяжесть по Вагнеру».

Таким образом, нейросетевая модель показала при прогнозировании зависимого предиктора «Степень поражения по Вагнеру» достаточно высокую чувствительность (98,8%) и специфичность (100%).

При прогнозировании вероятности заживления ДЯС в зависимости от методов физического воздействия у больных с СДС мы применяли модель Кокса (Cox Proportional Hazards Model), часто называемую в литературе «Пропорциональная модель Кокса». Данная модель является часто применяемым в современных научных публикациях и рекомендуемым инструментом для анализа данных по наступлению какого-либо временного исхода (выздоровления,

заживления язвы или раны, появления осложнений, летального исхода и т.д.). Ее основу составляет метод множественной регрессии, и в качестве выходного предиктора модель прогнозирует значение отношения шансов или рисков, и его доверительный интервал.

Отношение рисков (hazard ratio, HR) – это оценка отношения интенсивностей (показателей, уровней, функции) риска в экспериментальных группах и группе сравнения или контроля, рассчитанных для любого временного момента наблюдения. Модель показывает, что отношение рисков у членов экспериментальных групп остается неизменными в течение всего периода наблюдения. Интенсивность риска представляет собой вероятность того, что событие, не произошедшее к определенному моменту, случится в следующий интервал времени. Временной интервал может быть установлен длинным или достаточно коротким, поэтому и оценку можно сделать для любого момента времени. Другими словами, если регрессию Кокса применить к клиническому испытанию, в котором ожидаемым результатом является, например заживление язвы и выздоровление пациента, отношение рисков (шансов) отражает относительную вероятность быстреего выздоровления у больных, получающих специфическое лечение, по отношению к пациентам контрольной группы или групп сравнения для любого момента времени.

Данная модель позволяет включать в исследование всех интересующих нас пациентов, невзирая на цензурирование (частичную неполноту данных), поскольку модель использует базисное допущение о том, что выбывание пациентов может происходить случайным образом и с одинаковой вероятностью как в изучаемой, так и в контрольной группе. Только в регрессии Кокса мы можем оценить влияние множества предикторов на исход с учетом периода наблюдения до выздоровления.

Сразу необходимо отметить: несмотря на то что отношение рисков (HR) может быть применено к любому моменту времени периода наблюдения, сам по

себе этот показатель не дает непосредственного представления о времени до события. Отношение рисков может показывать наличие положительного эффекта от применения метода в клиническом испытании (когда HR достоверно превышает 1), что действительно предполагает сокращение времени до выздоровления.

Соотношение шансов (Odds Ratio, OR) – это отношение шанса наступления исхода в группе с применяемой медицинской технологией (воздействия данного фактора) к шансу наступления исхода в других группах, в которых применяется другая технология. В этом случае под шансом подразумевается отношение числа испытаний, в результате которых исход наступил к числу испытаний, в результате которых исход не наблюдался. Для удобства перед определением показателей относительного риска и соотношения шансов составляют таблицу сопряженности, в которой отражаются все возможные исходы исследования по изучению данной медицинской технологии.

В исследование для построения регрессии Кокса были включены 125 пациентов в возрасте от 18 до 80 лет, госпитализированных и пролеченных в стационаре по поводу язвенных поражений стопы при сахарном диабете 2 типа, разделенных на 4 опытные группы в зависимости от применяемых методик лечения. В качестве входных параметров были выбраны следующие параметры: факторы роста TGF-1 β , PDGFBB и VEGF. За период 60 дней была оценена частота возникновения комбинированной конечной точки (ККТ), которая характеризует время наступления выздоровления (заживление язв на стопе).

В зависимости от выбора методов лечения исследуемые больные были выделены в 4 группы: 1-я группа с применением метода VAC-терапии (35 больных); 2-я группа (31 больной) – с применением метода УЗ-кавитацией; 3-я группа – с методом озono- и лазеротерапии (31 больной) и 4-я группа (28 больных) с традиционным течением без применения методов физического воздействия на раневой процесс.

Результаты расчета базовых значений модели показали, что показатель – 2Log правдоподобия (-2LL) для базовой модели без предикторов составил 641,829. Значение этого показателя для модели с предикторами было значимо ниже (-2LL=632,833, $X^2=8,995$, $p<0,029$), то есть предложенная модель обладает большей предсказательной способностью по сравнению с базовой.

Для построения модели необходимо выбрать метод введения предикторов в модель. Можно использовать метод форсированного ввода, «Enter» (все переменные одновременно вводятся в модель), метод последовательного ввода «Forward» и метод последовательного исключения переменных «Backward». При использовании двух последних пошаговых методов мы выбираем только ограниченный ряд независимых переменных. Программа затем определяет порядок включения их в модель на основании предсказательной способности предикторов (наиболее значимо коррелирующий признак вводится первым). Включение предикторов в модель заканчивается, когда при добавлении очередного из них предсказательная способность модели статистически значимо не улучшается. Метод пошагового исключения «Backward» является противоположностью описанного метода. В нашем случае был применен метод ввода следующих предикторов: TGF-1 β , PDGFBB и VEGF в модель в виде принудительного форсированного включения «Enter».

Отношение между риском (шансом) наступления события и независимыми переменными выражается математической формулой:

$$h(T) = h_0(T) e^{\sum_{i=1}^p x_i \beta_i}$$

где

T – время; $x_1, \dots, x_p$ — независимые переменные (предикторы). $h_0(T)$ – основной риск (шанс) наступления события (baseline hazard rate), одинаковый для всех объектов наблюдения (при условии, что значения всех независимых переменных равны 0, то есть они никоим образом не влияют на исход); $\beta_1, \dots, \beta_p$ – регрессионные коэффициенты (regression coefficients), которые указывают на влияние каждого предиктора на функцию риска (шанса), и при увеличении

значения предиктора на единицу, если значения остальных переменных неизменны, риск (шанс) наступления события возрастает в $\exp(e)$ раз.

В регрессии Кокса (как и в логистической регрессии) нулевая гипотеза проверяется при помощи критерия Вальда (Wald) (предиктор не имеет связи с зависимой переменной, т.е. его регрессионный коэффициент значимо не отличается от нуля). Если регрессионный коэффициент значимо отличается от нуля, то независимая переменная вносит значимый вклад в предсказательную способность модели.

Границы 95% ДИ (95,0% CI for $\text{Exp}(B)$) отражают, в каких пределах с вероятностью 95% находится значение этого коэффициента для популяции, из которой была сформирована изучаемая выборка. Чем шире будут границы интервала $\text{Exp}(B)$, тем менее точно значение коэффициента B отражает его значение переменной для генеральной совокупности, и наоборот. Факторами, имеющими независимое влияние на шансы достижения ККТ в исследуемых группах согласно таблице 3, являются предиктор PDGFBB, у которого уровень значимости 0,005 при величине критерия Вальда – 7,751. Для других предикторов, TGF-1 β и VEGF, уровень значимости и величина критерия Вальда не приводят к повышению шансов благополучного исхода лечения или снижению риска увеличения времени наступления ККТ.

Итоговое математическое выражение для расчета шансов (рисков) наступления благополучного исхода будет выглядеть следующим образом: $H(T) = h_0 \cdot \exp(0,001 \cdot \text{TGF-1}\beta + 0,035 \cdot \text{PDGFBB} + 0,001 \cdot \text{VEGF} + A_{se})$, где $H(T)$ – шансы (риск) для пациента во время t ; h_0 – базовый (априорный) шанс (риск); A_{se} – обобщенная стандартная ошибка коэфф. B .

В случае с фактором PDGFBB наиболее корректной интерпретацией $\text{Exp}(B)$ или $HR=1,036$ является тот факт, что пациент, принимающий лечение с применением метода VAC-терапии и у которого выздоровление еще не наступило до какого-то момента времени, имеет в 1,036 раза больший шанс выздороветь к следующему моменту времени, чем тот, кто получал другой метод лечения. Вероятность того, что событие наступит раньше, может быть рассчитана из

показателя HR по формуле: $p = HR / (1 + HR)$. Таким образом, $HR = 1,036$ соответствует 51% шансу более раннего наступления события (заживление язв на стопе) у пациента, получавшего препарат, чем у того, который получал другое или традиционное лечение. Можно предложить и другой вариант интерпретации для HR фактора PDGFBB: при увеличении (уменьшении) значения фактора на десять единиц шанс развития (риск недостижения выздоровления) благоприятного исхода увеличивается (уменьшается) в $1,036^{10}$ (1,42) раз или на 42%.

Согласно корреляционному матриксу выявлены корреляции очень слабой (до 0,2), слабой (0,2-0,5) силы, что не мешает применению модели. Только сильные корреляционные связи ($>0,7$ или $>0,9$ по данным различных источников) могут повлиять на результаты анализа.

В I группе среднее время возникновения ККТ у больных (с VAC-терапией) составило не более 20-22 дней (медиана достижения), что было ниже в 1,75 раза, чем во 2-й или 3-й группах больных, где среднее время выживания составляло 36-38 дней.

Согласно проведенному анализу кумулятивной вероятности у больных 1-й группы, медиана наступления ККТ (заживления язвенного дефекта конечности у 50% наблюдаемых в группе пациентов) была достигнута на протяжении 19 (ДИ:15 - 22) дней, а в группе 2 и 3 медиана наступления ККТ составила 31(95%ДИ:25 - 35) день и 35(95%ДИ:32 - 39) дней соответственно. В 4-й группе медиана наступления ККТ составляет 56(95%ДИ:49 - 59) дней.

При проведении парного сравнения с применением критерия сравнения Гехана-Вилкоксона ($\chi^2=6,694$; $p=0,007$) были выявлены достоверные статистические различия по показателям возникновения ККТ в 1-й и 4-й группах ($p < 0,05$).

При проведении попарного сравнения показателей медианы наступления благоприятного исхода в разных группах с применением критерия сравнения Гехана-Вилкоксона ($\chi^2=0,442$; $p=0,506$) достоверных различий между 2-й и 3-й группами не было выявлено. По всем тестам сравнения рисков Log Rank

($\chi^2=8,714$; $p=0,01$), Breslow ($\chi^2=8,694$; $p=0,007$) и Tarone-Ware ($\chi^2=8,694$; $p=0,008$) были выявлены статистически значимые различия по показателям медианы наступления благоприятного исхода между 1-й группой и 4-й группой с традиционными методами лечения.

Таким образом, модель пропорциональных интенсивностей Кокса является удобным инструментом для биомедицинских исследований, так как ее использование предоставляет возможность провести относительно точный анализ вероятности наступления исхода лечения по предлагаемому методу в сравнении с другими методами, что связано с включением набора независимых переменных, влияющих на шанс наступления прогнозируемого благоприятного события.

На завершающем этапе исследования нами проведена оценка эффективности результатов лечебной тактики с учетом прогноза исхода лечения.

В первой группе пациентов оперативное лечение выполнялось в два этапа, оперировано было 100% больных. Первым этапом выполнялась первичная/вторичная хирургическая обработка раны с наложением аппарата VAC-дренирования. На втором этапе VAC-аппарат снимался, выполнялась один из видов пластик для закрытия раны. Во второй группе также было оперировано 100% пациентов, первичная/вторичная обработка раны дополнялась ультразвуковой кавитацией, после чего предпринималась попытка закрытия раны. В третьей и четвертой группах большая часть пациентов, $78,0 \pm 2,1\%$ и $87,7 \pm 2,1\%$ соответственно, были оперированы. Консервативно было пролечено $22,0 \pm 2,6\%$ больных в третьей группе и $12,3 \pm 2,1\%$ в четвертой группе больных.

Средняя продолжительность стационарного лечения в группе с VAC-терапией и УЗ кавитацией составила $29,7 \pm 3,8$ и $23,0 \pm 3,4$ койко-день соответственно. В группе с использованием лазера-, озонотерапии и в группе с традиционным лечением средний койко-день был несколько выше – $39,2 \pm 3,7$ и $45,7 \pm 3,8$, $p < 0,001$ соответственно.

В группе больных с VAC-терапией ранние послеоперационные осложнения наблюдались у 13 ($9,7 \pm 2,6\%$) больных, во второй группе (УЗ- кавитация) – у 17 ($12,0 \pm 2,7\%$) пациентов, в третьей группе больных (лазеро- и озонотерапия) – 87

(34,2±2,0%) осложнений, в контрольной группе (традиционное лечение) пациентов 95 осложнений (37,7±3,0%), $p < 0,001$

Применение VАС-терапии УЗ-кавитации способствовало скорейшему очищению ран, сокращению площади раневых дефектов, позволило в более короткие сроки, чем при традиционном лечении, уменьшить или ликвидировать воспалительный процесс, стимулировало развитие грануляционной ткани и ускоряло процесс эпителизации.

ВЫВОДЫ

В диссертационной работе на основании клинических, инструментальных, патоморфологических, иммуноферментных методов исследования автором решена научная проблема: на основании наиболее патогенетически значимых предикторов и созданной математической прогностической модели исхода лечения была доказана необходимость применения обоснованной тактики лечения больных с СДС, что имеет важное значение для теоретической и практической медицины.

1. В исследуемых группах у больных преобладал сахарный диабет средней и тяжелой степени тяжести: 178 пациентов (22,8 (1,5)%) и 536 человек (68,5 (1,7)%) соответственно. Сахарный диабет в стадии компенсации был выявлен у 76 пациентов (9,7 (1,0)%), в стадии субкомпенсации – у 240 больных (30,7 (1,7)%), декомпенсированный сахарный диабет – у 466 человек (59,6 (1,7)%). Ишемическая форма диабетической стопы была выявлена у 156 больных (19,9 (1,4)%), нейропатическая – у 290 пациентов (37,1 (1,7)%), смешанная – у 336 больных (43,0 (1,8)%).

2. По данным морфологического исследования установлено, что после VAC-терапии грануляционная ткань достигала максимального развития в области дна ран ($p=0,001$), а в краях ран встречалась в 1,75 раза чаще (в среднем 47,5%, $p=0,009$), чем до лечения (27,1%). Лейкоцитарная инфильтрация краев ран в 1-й группе в 1,27 раза превышала таковую при традиционном лечении (4-я группа) (в среднем 85,4% против 62,3%; $p=0,010$). Репаративные процессы при использовании VAC-терапии являлись наиболее эффективными по сравнению с другими методами лечения. Уменьшение уровня бактериальной обсеменённости тканей раны ниже критического (10^5 КОЕ/г) при лазеротерапии достигалось в среднем к 3-м суткам против 7-х суток при традиционных методах местного лечения ран ($p<0,001$); при УЗ-кавитации и VAC-терапии – к 5 суткам. На 7-е

сутки лечения после курса лазеротерапии (3-я группа) пациенты с микробной колонизацией не встречались, степень бактериальной обсемененности ран пациентов 1-й, 2-й, 4-й групп составляла в среднем $10^2 - 10^3$ микробных клеток на 1 г ткани.

3. На фоне VAC-терапии в сочетании с реконструкцией бедренно-подколенного сегмента установлено раннее появление грануляций на 8,1(0,56) сутки с удовлетворительными данными кровотока в сравнении со сроками при традиционном лечении ран – 12,4 (0,56) сутками ($p < 0,001$), УЗ-кавитации – 9,2 (0,56) ($p = 0,006$), лазеро-, озонотерапии – 10,1(0,56) ($p = 0,008$).

4. Сердечно-сосудистые нарушения представлены: артериальная гипертензия (57,0% случаев), ишемическая болезнь сердца (45,9%), перенесенный инфаркт миокарда (31,2%), хроническая сердечная недостаточность (16,2%), фибрилляция предсердий (57,1%), диабетическая нефропатия (32,8%). Частота встречаемости данных нарушений, а также их выраженность статистически значимо возрастала от ишемической, нейропатической формы СДС к смешанной форме. Применение комплекса гиполипидемической терапии с урсодезоксихолевой кислотой способствовало снижению частоты осложнений и койко-дней.

5. Выявлены реакции факторов роста в виде снижения уровня VEGFA в 1-2-й группах в 4-4,5 раза ($p < 0,001$), 3-й группе в 3,11 раза ($p < 0,001$), в 4-й группе в 1,55 раза ($p < 0,001$); превышения PDGF-BB в 1-й группе в 1,3 раза ($p < 0,001$); увеличения TGF- 1β в 1,5 раза в 1-й группе ($p < 0,001$), во 2-й – в 1,36 раза ($p < 0,001$) и в 3-й – в 1,3 раза ($p < 0,001$), что указывало на стимулирующее влияние VAC-терапии и УЗ-кавитации на процессы эффективного ангиогенеза, митогенеза и фиброгенеза в репарации диабетических язв стопы.

6. Исследование иммунорегуляторных цитокинов у больных с СДС показало достоверное увеличение уровней INF γ в 14,66 раз, IL- 1β в 17,15 раз, TNF α в 14,16 раз, IL-6 в 6,7 раз, IL-10 в 1,63 раза ($p < 0,001$). После комплексного лечения установлены максимальные различия при VAC-терапии с достоверным снижением INF γ в 8,2 раза, IL- 1β – в 4,93 раза, TNF α – в 8,82 раза, IL-6 – в 3,82 раза ($p < 0,001$) и повышение IL-10 в 3,62 раза ($p < 0,001$).

7. Установлены достоверные связи между уровнем VEGFA и содержанием IL-6 ($R=0.64$; $p=0,002$), IL-10 ($R=-0,49$; $p=0,005$) после лечения. Синтез PDGF-BB и IL-10 увеличивался с достоверной положительной связью ($R=0,59$; $p=0,001$). Выявленные связи между TGF- 1β и уровнями цитокинов IL-6 ($R=-0,61$; $p<0,001$) и IL-10 ($R=0,61$; $p<0,001$) свидетельствовали об уменьшении воспалительной реакции при увеличении TGF- 1β как маркера процесса репарации ран.
8. В результате проведенной исследовательской работы была создана искусственная нейронная сеть с четырьмя слоями, которая может использоваться для прогнозирования возникновения послеоперационных осложнений у больных с СДС, и построена на следующих входных признаках: тип диабета, степень по Вагнеру, пол и тяжесть состояния пациента при поступлении. На основании проведенных расчетов параметров модели чувствительность ее составила 82,5% (95%ДИ:79,5-85,3), специфичность – 85,1% (95%ДИ:75,5-94,7) и точность – 82,0% (95%ДИ:80,1-83,9).
9. Разработана математическая модель прогнозирования исхода лечения язвенно-некротических поражений нижних конечностей у больных сахарным диабетом. Установлено, что наилучшими прогностическими способностями обладает модель с чувствительностью $> 98,8\%$ (95%ДИ: 97,9 - 99,5) и специфичностью $> 84,4\%$ (95%ДИ: 75,4- 91,7), построенная на 5 входных признаках («Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулинотерапия»).
10. Согласно проведенному анализу кумулятивной вероятности у больных 1-й группы медиана наступления ККТ (заживления язвенного дефекта конечности у 50% наблюдаемых в группе пациентов) была достигнута на протяжении 19 (ДИ:15 - 22) дней, а в группе 2 и 3 медиана наступления ККТ составила 31(95%ДИ:25 - 35) день и 35(95%ДИ:32 - 39) дней соответственно. В 4-й группе медиана наступления ККТ составила 56(95%ДИ:49 - 59) дней.
11. Установлено повышение эффективности разработанных патогенетически обоснованных лечебных программ, о чем свидетельствовали сокращение средней длительности стационарного лечения в группе с VAC- терапией, УЗ- кавитацией и

лазеро-, озонотерапии до $29,7 \pm 3,8$, $23,0 \pm 3,4$ и $39,2 \pm 3,7$ койко-дней в сравнении с традиционным лечением $45,7 \pm 3,8$; $p < 0,001$. Уменьшение частоты ранних послеоперационных осложнений наблюдалось: в группе с VAC-терапией у 13 ($9,7 \pm 2,6\%$) пациентов, в группе с УЗ-кавитацией – у 17 ($12,0 \pm 2,7\%$) пациентов, в группе с лазеро- и озонотерапией – 87 ($34,2 \pm 2,0\%$) в сравнении с группой с традиционным лечением, где осложнения выявлены у 95 ($37,7 \pm 3,0\%$) пациентов, $p < 0,001$.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Адекватное хирургическое лечение больных с синдромом диабетической стопы должно основываться на принципе индивидуально-дифференцированного подхода с учетом максимально возможного количества лабораторных и инструментальных обследований.
2. Основным методом лечения больных с синдромом диабетической стопы является рациональная первичная/вторичная хирургическая обработка раны с использованием современных средств физико-химического воздействия.
3. На фоне восстановленного магистрального кровотока в максимально ранние сроки целесообразно проводить хирургическую обработку раны, включающую закрытие тканевых дефектов, поскольку это позволит сохранить опорную функцию конечности, предупредить развитие гнойно-септических осложнений.
4. Медикаментозная терапия больных с синдромом диабетической стопы должна носить комплексный поливалентный характер.
5. Изучение клинико-лабораторного материала позволяет уверенно прогнозировать исход лечения.
6. Прогнозирование послеоперационных осложнений у больных диабетической стопой должно основываться на предложенной нейросетевой модели с учетом наиболее важных предикторов: тип диабета, степень по Вагнеру, пол и тяжесть состояния пациента при поступлении.
7. Прогнозирование исхода лечения должно основываться на предложенной математической модели с учетом наиболее важных предикторов («Тип СД», «Тяжесть состояния пациента при поступлении», «Количество койко-дней», «Наличие осложнений», «Инсулинотерапия»).
8. Лечение диабетических язв стопы с применением высокотехнологичных методов лечения (вакуумной терапии, ультразвуковой кавитации, современных

интерактивных перевязочных материалов, современных способов пластического закрытия) должно носить дифференцированный характер.

9. Вакуумную терапию, ультразвуковую кавитацию, лазеротерапию, подавляющие развитие бактериальных биопленок, можно использовать в качестве методов, успешно дополняющих традиционное лечение пациентов с осложненными формами синдрома диабетической стопы и рекомендовать для осуществления высокоэффективного комплексного лечения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия	CNTF – цилиарный
АЛК – альфа-липоевая кислота	нейротрофический фактор
БППШ–бедренно-подколенное шунтирование	CSF – колониестимулирующий фактор
ГЛЖ – гипертрофия левого желудочка	СТ – кардиотропин
ГМЦР–гемомикроциркуляторное русло	EGF – эпидермальный фактор роста
ДЯС – диабетические язвы стоп	FGF – фактор роста фибробластов
ДИ – доверительный интервал	Hb _{A1c} – гликозилированный
ДПН – диабетическая периферическая нейропатия	гемоглобин
ДНП – диабетическая нефропатия	IFN – интерферон
ИМ – инфаркт миокарда	Ig – иммуноглобулин
ИНС – искусственная нейронная сеть	IGF – инсулиноподобный фактор роста
ИБС – ишемическая болезнь сердца	IL – интерлейкин
ИЛ – исход лечения	LIF – лейкемия-ингибирующий фактор
ЛИ – лейкоцитарная инфильтрация	OSM – онкостатин М
ЛПИ – лодыжечно-плечевой индекс	PDGF – тромбоцитопроизводный фактор роста
ЛПНП– липопопротеины низкой плотности	ROC – диаграмма операционной характеристики
МСК – мезенхимальные стволовые клетки	TGF – трансформирующий фактор роста
НПА – наружная подвздошная артерия	TLR – толл-подобный рецептор
ОАВ – основное аморфное вещество	TNF – фактор некроза опухолей
ПКВ – пучки коллагеновых волокон	VAC – вакуумная аспирационная
РВО–реконструктивно- восстановительных операции	

РЭД – рентгенэндоваскулярная терапия
дилатация VEGF – васкулоэндотелиальный
РКИ – рандомизированное исследование
контролируемое исследование
СКФ – скорость клубочковой
фильтрации
СК – соединительнотканые клетки
СД – сахарный диабет
СДС – синдром диабетической стопы
УЗ – ультразвук
УЗДГ – ультразвуковая доплерография
УДХК – урсодезоксихолевая кислота
ФП – фибрилляция предсердий
ХСН – хроническая сердечная
недостаточность

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаев, Р. Н. Комплексное лечение гнойно-некротических поражений нижней конечности у больных с синдромом диабетической стопы [Текст] / Р. Н. Абдуллаев // Новый день в медицине. – 2021. – № 2 (34). – С. 413–418.
2. Активность трансформирующего фактора роста- β у лиц молодого возраста с марфаноидной внешностью [Текст] / Е. В. Тимофеев [и др.] // Педиатр. – 2019. – Т. 10, № 1. – С. 49–56.
3. Аляпышев, Г. С. Клинико-экономическое обоснование эффективности применения биопластического материала в лечении пациентов с нейропатической формой синдрома диабетической стопы [Текст] / Г. С. Аляпышев // Врач. – 2021. – Т. 32, № 12. – С. 75–79.
4. Анализ уровня трансформирующего фактора роста $\beta 1$ при хронической сердечной недостаточности [Текст] / Л. П. Воронина [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2018. – Т. 13, № 3. – С. 9–15.
5. Анализ противоопухолевых свойств внеклеточных везикул мезенхимных стволовых клеток со сверхэкспрессией родственного фактору некроза опухоли апоптоз-индуцирующего лиганда (TRAIL) [Текст] / Д. С. Чулпанова [и др.] // Гены и Клетки. – 2019. – Т. 14, № S. – С. 256.
6. Ангиографические методы в лечении пациентов с синдромом диабетической стопы [Текст] / О. В. Галимов [и др.] // Креативная хирургия и онкология. – 2021. – Т. 11, № 4. – С. 300–306.
7. Батрашов, В. А. Значение реконструкции путей оттока при оперативных вмешательствах на аорто-бедренном сегменте у пациентов с критической ишемией нижних конечностей [Текст] / В. А. Батрашов, Г. А. Мирземагомедов, С. С. Юдаев // Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении

- сосудистых больных: материалы XXIX Международной конференции. – Рязань, 2014. – С. 32–33.
8. Батюк, В. И. Результаты хирургического лечения пациентов с гнойно-некротическими осложнениями синдрома диабетической стопы [Текст] / В. И. Батюк, З. А. Дундаров, Д. М. Адамович // Актуальные проблемы медицины : материалы Республиканской научно-практической конференции и 27-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета / под ред. А. Н. Лызикова. – Гродно, 2018. – С. 73–75.
 9. Белялова, Ф. И. Прогнозирование и шкалы в кардиологии [Текст] / Ф. И. Белялов. – 2-е изд. – Москва : МЕДпресс-информ, 2018. – 300 с.
 10. Белялова, Ф. И. Клинические рекомендации по кардиологии и коморбидным болезням [Текст] / Ф. И. Белялова. – 11-изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 293с.
 11. Богомолов, С. Д. Применение искусственных нейронных сетей для прогнозирования в хирургии [Текст] / С. Д. Богомолов, С. В. Киселев, А. П. Медведев // Нижегородский медицинский журнал.– 2003. – № 1. – С.13–16.
 12. Бондаренко, О. Н. Исходы эндоваскулярных вмешательств у больных сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей [Текст] / О. Н. Бондаренко, Г. Р. Галстян, Г. Л. Аюбова // Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении сосудистых больных: материалы XXIX Международной конференции. – Рязань, 2014. – С. 54–55.
 13. Бубнова, Н. А. Рекомбинантный интерлейкин-2 в лечении синдрома диабетической стопы [Текст] / Н. А. Бубнова, О. Б. Чернышев, В. Н. Егорова // Терапевт. – 2022. – № 2. – С. 31–44.
 14. Вакуум-ассистированное лечение больных с синдромом диабетической стопы [Текст] / В. И. Нефедов [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2014. – № 4 (182). – С. 91–93.

15. Вачёв, А. Н. Этапное лечение пациентов с синдромом диабетической стопы [Текст] / А. Н. Вачёв, Е. В. Фролова, Д. А. Черновалов // Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении сосудистых больных : материалы XXIX Международной конференции. – Рязань, 2014. – С. 74–75.
16. Влияние высоко- и низкомолекулярной гиалуроновой кислоты на высвобождение омега-3 и омега-6 кислот при активации толл-подобных рецепторов в астроцитах [Текст] / Н. В. Азбукина [и др.] // Биологические мембраны. – 2020. – Т. 37, № 2. – С. 94–102.
17. Возможности местного лечения гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы [Текст] / С. Я. Ивануса [и др.] // Нестираемые скрижали: сепсис et cetera: сборник материалов конференции Ассоциации общих хирургов, приуроченной к юбилею кафедры общей хирургии ЯГМУ. – Ярославль, 2020. – С. 255–258.
18. Воронцова, З. А. Восстановительные процессы и гормоны (обзор литературы) [Электронный ресурс] / З. А. Воронцова, А. Е. Образцова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2018. – №6.–Публикация 3-20. – URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2018-6/3-20> (дата обращения : 03.02.2023).
19. Гавриленко, А. В. Методы хирургического лечения больных облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей с поражением дистального русла [Текст] / А. В. Гавриленко, А. А. Егоров, С. Н. Молокопой // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2018. – Т.17, № 3. – С. 121–125.
20. Галстян, Г. Р. Эпидемиология синдрома диабетической стопы и ампутаций нижних конечностей в Российской Федерации по данным Федерального регистра больных сахарным диабетом (2013–2016 гг.) [Текст] / Г. Р. Галстян, О. К. Викулова, М. А. Исаков // Сахарный диабет. – 2018. –Т. 20, № 3. – С. 170–177.

21. Галстян, Г.Р. Заболевания артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом: состояние проблемы и перспективы лечения [Текст] / Г. Р. Галстян, А. Ю. Токмакова, О. Н. Бондаренко // Сахарный диабет – 2011. – № 1. – С. 74–79.
22. Глухов, А. А. Результаты лечения пациентов с гнойно-некротическими осложнениями синдрома диабетической стопы с применением программируемых технологий [Текст] / А. А. Глухов, В. А. Сергеев, Г. А. Семенова // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 2018. – Т. 177, № 6. – С. 63–68.
23. Гринцов, А. Г. Непрямая лимфотропная антибактериальная терапия в комплексном лечении осложненных форм диабетической стопы [Текст] / А. Г. Гринцов, Ю. Г. Луценко // Университетская клиника. – 2021. – №4 (41). – С. 134–138.
24. Давиденко, О. П. Синдром диабетической стопы. Его роль и место в современной диабетологии (обзор литературы) [Текст] / О. П. Давиденко // Медицина и образование в Сибири: электронный журнал. – 2014. – № 5. – С. 16–23.
25. Дедов, И. И. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом - 9-й выпуск [Текст] / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, А. Ю. Майоров // Сахарный диабет. – 2019. – № 22, Приложение 1. – С. 1–121.
26. Демирджаяева, Э. Л. Использование метода кавитационно-вакуумной санации гнойных ран у больных с синдромом диабетической стопы [Текст] / Э. Л. Демирджаяева, О. С. Ильясов, П. Н. Можаяев // Colloquium-journal. – 2019. – № 27-3 (51). – С. 68–69.
27. Динамика трансформирующего фактора роста бета 1 у реципиентов сердца [Текст] / О. Е. Гичкун [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21, № S. – С. 56.
28. Достижения клеточной терапии в комбустиологии [Текст] / И. В. Гилевич [и др.] // Инновационная медицина Кубани. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 6–14.

29. Земляной, А. Б. Параллели особенностей антибиотикорезистентности инфекций синдрома диабетической стопы на стационарном и амбулаторном этапах лечения [Текст] / А. Б. Земляной, Т. А. Зеленина, В. В. Салухов // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16, № 6. – С. 234–242.
30. Иванов, Г.Г. Лечение гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы с применением современных раневых покрытий [Текст] / Г. Г. Иванов // Лучшая научно-исследовательская работа 2018 : сборник статей XII Международного научно-практического конкурса / под общей редакцией Г. Ю. Гуляева. – Пенза, 2018. – С. 302–308.
31. Ивануса, С. Я. Этапные эндовидеоскопические санации и ультразвуковая кавитация при лечении больных с инфекционными осложнениями синдрома диабетической стопы [Текст] / С. Я. Ивануса, А. В. Янишевский, Р. Е. Шаяхметов // Морская медицина. – 2021. – Т. 7, № 5. – С. 56–58.
32. Иголкина, Е. В. Выживаемость терапии ингибиторами фактора некроза опухоли А: основные причины и тактика замены препаратов [Текст] / Е. В. Иголкина, Н. В. Чичасова // Современная ревматология. – 2018. – Т. 12, № 4. – С. 23–31.
33. Интегральные системы оценки тяжести состояния больных при политравме [Текст] / Б. Р. Гельфанд [и др.] // Неотложная медицина в мегаполисе : международный научный форум : тезисы докладов. – Москва, 2004. – С. 53.
34. Ким, В. Л. Количественные клинические системы оценки тяжести состояния больных (обзор литературы) [Текст] / В. Л. Ким, М. Ш. Хакимов // Вестник врача общей практики. – 2005. – № 2. – С. 1–9.
35. Кисляков, В. А. Характеристика патогенеза рецидивов язвенных и гнойно-некротических поражений при синдроме диабетической стопы [Текст] / В. А. Кисляков // Харизма моей хирургии : материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященная 160-летию ГБУЗ ЯО "Городская больница имени Н. А.Семашко" / под ред. А. Б. Ларичева. – Ярославль, 2018. – С. 351–354.

36. Клиническая значимость взаимосвязей показателей системного и местного адаптивного и врождённого иммунитета на примере полипозного риносинусита [Текст] / М. З. Саидов [и др.] // Иммунология. – 2010. – № 2. – С. 101–107.
37. Клинические рекомендации. Хроническая болезнь почек (ХБП) [Текст] // Нефрология. – 2021. – Т. 25, № 5. – С. 10–82.
38. Кольке, А. А. Целесообразность применения биомедицинских клеточных продуктов у пациентов с синдромом диабетической стопы [Текст] / А. А. Кольке, Е. В. Зиновьев, В. В. Завацкий // Скорая медицинская помощь. – 2020. – Т. 21, № 4. – С. 63–69.
39. Комелягина, Е. Ю. Факторы роста в терапии язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы [Текст] / Е. Ю. Комелягина, М. Б. Анциферов // Сахарный диабет. – 2019. – Т. 22, № 4. – С. 377–383.
40. Комплексное лечение больных с гнойно-некротическими осложнениями при нейропатической форме синдрома диабетической стопы [Текст] / Б. М. Белик [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2020. – № 4. – С. 81–87.
41. Комплексный подход к хирургическому лечению ран [Текст] / В. А. Митиш [и др.] // Раны и раневые инфекции : сборник научных трудов. – Москва, 2021. – С. 198–199.
42. Кулабухов, В. В. Особенности применения шкалы оценки риска развития инвазивного кандидоза у тяжело обожженных пациентов [Текст] / В. В. Кулабухов // Инфекции в хирургии. – 2014. – № 4. – С. 16–23.
43. Курлаев, П. П. Антибактериальная терапия гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы [Текст] / П. П. Курлаев, В. А. Гриценко, Ю. П. Белозерцева // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. – 2018. – № 4. – С. 80–87.
44. Лапин, С. В. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний [Текст] / С. В. Лапин, А. А. Тотолян. – Санкт-Петербург : Издательство «Человек», 2010. – 272 с.

45. Леви-Монтальчини, Р. Факторы роста нервов и тканей [Текст] / Р. Леви-Монтальчини // Международный неврологический журнал. – 2012. – № 3 (49). – С. 21–27.
46. Ледовской, С. Н. Сравнительный анализ эффективности применения аллогенных диплоидных фибробластов различной степени зрелости в лечении пограничных ожогов [Текст] : дис. ...канд. мед. наук: 14.01.17 : защищена 24 февраля 2011 г. / Ледовской Сергей Николаевич ; Курский государственный медицинский университет. – Курск, 2011. – 159 с.
47. Лечение гнойной инфекции мягких тканей: от истории к настоящему (литературный обзор) [Текст] / В. К. Гостищев [и др.] // Актуальные проблемы медицины. – 2020. – Т. 43, № 1. – С. 155–164.
48. Луценко, Ю. Г. Некоторые аспекты диагностики и комплексного лечения диабетической ангиопатии нижних конечностей [Текст] / Ю. Г. Луценко, Н. К. Базиян-Кухто // Травматология, ортопедия и военная медицина. – 2022. – № 1. – С. 48–52.
49. Луценко, Ю. Г. Применение дермального эквивалента в лечении диабетических язв стопы [Текст] / Ю. Г. Луценко // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2022. – Т. 31, № 1. – С. 64–69.
50. Любенко, Д. Л. Применение ультразвука в медицине [Текст] / Д. Л. Любенко // Лечебное дело. — 2004. — № 3—4. — С. 25—27.
51. Мараев, В. В. Лазерные технологии в лечении длительно не заживающих язв различного генеза [Текст] / В. В. Мараев, В. И. Елисеенко, М. М. Мусаев // Лазерная медицина. – 2018. – Т. 22, № 2. – С. 13–18.
52. Масычева, В. И. Некоторые аспекты клинических испытаний препаратов фактора некроза опухоли [Текст] / В. И. Масычева, А. О. Белкина, Е. Д. Даниленко // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 39–44.
53. Матвееenko, А. В. Модель прогноза исхода ожоговой травмы на основе пробит-анализа [Текст] / А. В. Матвееenko, С. А. Плотников, С. В. Шиндяпин // Вестник хирургии. – 2006. – Т. 165, № 4. – С. 50–53.

54. Матвеевко, А. В. Определение тяжести состояния обожженных с помощью координатных сеток вероятности летального исхода [Текст] / А. В. Матвеевко, И. В. Чмырёв, С. А. Петрачков // Скорая помощь. – 2013. – Т. 14, № 1. – С. 34–43.
55. Машкова, М. А. Патофизиологические аспекты заживления язв при синдроме диабетической стопы [Текст] / М. А. Машкова, Т. В. Мохорт // Здоровоохранение (Минск). – 2018. – № 12. – С. 29–37.
56. Машкова, М. А. Сравнение концентрации интерлейкина-1, интерлейкина-4, интерлейкина-6 в сыворотке крови у пациентов с синдромом диабетической стопы с разным исходом раневого процесса [Текст] / М. А. Машкова, Т. В. Мохорт // Современные технологии в медицинском образовании: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию Белорусского государственного медицинского университета. – Минск, 2021. – С. 376–380.
57. Мельникова, Ю. А. Причины низких зрительных функций у пациентов после витрэктомии по поводу отслойки сетчатки [Текст] / Ю. А. Мельникова, А. Д. Мамашева // Bulletin of Medical Internet Conferences. – 2020. – № 10 (2). – С. 50.
58. Методология изучения системного воспаления [Текст] / Е. Ю. Гусев [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 15–23.
59. Могулевцева, Ю. А. Воздействие на физиологические эффекты фактора некроза опухоли посредством рнк-интерференции матриксной металлопротеиназы 1 [Текст] / Ю. А. Могулевцева, А. В. Мезенцев, С. А. Брускин // Генетика. – 2018. – Т. 54, № 8. – С. 948–955.
60. Морфологическое обоснование эффективности применения ультразвуковой кавитации с 0,2 % раствором лавасепта при лечении гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы [Текст] / И. А. Чекмарева [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2019. – № 7. – С. 63–70.

61. Мультидисциплинарный подход в лечении больных с синдромом диабетической стопы [Текст] / А. А. Матюков [и др.] // Тюменский медицинский журнал. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 44.
62. Мустаева, А.С. Актуальные проблемы диагностики и лечения диабетической стопы [Текст] / А. С. Мустаева, С. Н. Стяжкина, А. Ю. Михайлов // Modern Science. – 2021. – № 10. – С. 230–233.
63. Наумова, Л. А. Особенности экспрессии трансформирующего фактора роста бета и экстрацеллюлярного матрикса при раке желудка, ассоциированном с дисплазией соединительной ткани [Текст] / Л. А. Наумова, О. Н. Осипова // Вестник СурГУ. Медицина. – 2018. – № 1 (35). – С. 90–96.
64. Небиеридзе, Д. В. Актуальные вопросы применения бета-адреноблокаторов в различных клинических ситуациях [Текст] / Д. В. Небиеридзе // Медицинский совет. – 2018. – Т. 12. – С. 12–17
65. Озонотерапия в лечении гнойно-некротических осложнений диабетической стопы [Текст] / П. И. Карпушкина [и др.] // Актуальные проблемы медицинской науки и образования (АПМНО-2017) : сборник статей VI Международной научной конференции / под ред. А. Н. Митрошин, С. М. Геращенко. – Пенза, 2017. – С. 108–110.
66. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом Medstat [Текст] / Ю. Е. Лях [и др.]. – Донецк : Папакица Е.К., 2006. – 214 с.
67. Особенности иммунологических нарушений при черепно-мозговой травме, травме конечностей и сочетанной травме [Текст] / С. Е. Золотухин [и др.] // Вестник неотложной и восстановительной хирургии. – 2019. – Т. 4, № 4. – С. 112–117.
68. Особенности патогенеза и лечения синдрома диабетической стопы [Текст] / А. Ю. Михайлов [и др.] // Modern Science. – 2021. – № 12-2. – С. 84–86.
69. Охунов, А. О. Особенности язвообразования у больных с синдромом диабетической стопы [Текст] / А. О. Охунов, Ф. М. Абдурахманов // Актуальные исследования. – 2021. – № 36 (63). – С. 27–32.

70. Пат. 2652312 Российская Федерация, МПК7 C12N 15/00. Линейка биологически активных генно-терапевтических субстанций на основе гена TGFβ1 для коррекции патологических состояний клеток органов и тканей и органов и тканей человека, способ получения и использования [Текст] / Савелиева Н., Гамолски А.; патентообладатель Селл энд Джин Терапи Лтд (GB), Общество с ограниченной ответственностью "Прорывные Инновационные Технологии"(RU). – № 2016101661: заявл. 20.01.2016 ; опубл. 25.04.2018, Бюл. N 12.
71. Пат. 60586 А Украина МПК А 61 В 10/00. Способ прогнозирования развития осложнений язвенной болезни [Текст] / Борзенко Б. Г. – № 2003010158; заявл. 01.01.03; опубл. 15.10.03, Бюл. № 10.
72. Патогенетические аспекты хирургического лечения трофических язв различной этиологии [Текст] / Э. Я. Фисталь [и др.] // Комплексный подход к лечению язвенно-некротических поражений конечностей сосудистого генеза: междисциплинарная межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием : сборник тезисов, 7-8 сентября 2017 г. – Челябинск, 2017. – С. 77–79.
73. Петри, А. Наглядная медицинская статистика: учебное пособие [Текст] / А.Петри, К. Сэбин; пер. с англ. Под ред. В.П.Леонова.–3-е изд., перераб. и доп. – М.:ГЭОТАР-Медиа, 2015.–216 с.
74. Пойманова, Ю. М. Хирургическое лечение синдрома диабетической стопы [Текст] / Ю. М. Пойманова // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 128.
75. Применение коллагенового материала при лечении синдрома диабетической стопы (многоцентровое клиническое исследование) [Текст] / В. А. Ступин [и др.] // Инфекции в хирургии. – 2018. – Т. 16, № 1-2. – С. 86–87.
76. Применение локального отрицательного давления в лечении гнойно-некротических форм синдрома диабетической стопы [Текст] / В. В. Чудин

- [и др.] // Неделя науки – 2021 : материалы международного молодёжного форума. – Ставрополь, 2021. – С. 622–623.
77. Прогностическое значение гемокоагуляционных тестов у пациентов с тяжелыми ожогами [Текст] / И. Л. Иваненко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. – С. 12–20.
 78. Пути снижения частоты высоких ампутаций, постампутационных осложнений и летальности при синдроме диабетической стопы [Текст] / В. М. Бенсман [и др.] // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б. М. Костючёнка. – 2021. – Т. 8, № 1. – С. 12–23.
 79. Расулов, М. Ф. Трансплантация мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для лечения термических ожогов кожи [Текст] : автореф. дис. доктора мед. наук: 14.00.41 : защищена 2007 г. / Расулов Масрур Фазлетдинович; Научно-исследовательский институт трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ – Москва, 2007. – 44 с.
 80. Рахаев, А. М. Лечение пограничных ожогов и донорских ран с применением культивированных аллофибробластов [Текст] : автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.27 : защищена 2000 г. / Рахаев Аслан Махмудович; Институт хирургии им. А. В. Вишневского – Москва, 2000. – 19 с.
 81. Рекомендации ESC по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в клинической практике [Текст] // Российский кардиологический журнал. – 2021. – Т. 7, № 7. – С. 191–288.
 82. Рисман, Б. В. Раневые покрытия и синдром диабетической стопы [Текст] / Б. В. Рисман, Г. Г. Иванов, Д. Н. Мустакимов // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б. М. Костючёнка. – 2017. – Т. 4, № 2. – С. 18–23.
 83. Роль факторов роста при спаечном процессе в брюшной полости [Текст] / Н. Н. Дремина [и др.] // Acta Biomedica Scientifica. – 2019. – Т. 4, № 5. – С. 98–103.
 84. Романюк, Ф. Г. Выбор первичной операции при критической ишемии нижних конечностей на фоне синдрома диабетической стопы [Текст] / Ф. Г. Романюк // Medicus. – 2019. – № 1 (25). – С. 58–60.

85. Румянцев, П.О. Статистические методы анализа в клинической практике. Часть. 2. Анализ выживаемости и многомерная статистика [Текст] / П.О. Румянцев., В.А. Саенко, У.В. Румянцева., С.Ю. Чекин //Проблемы Эндокринологии. - 2009.- № 55(6).- С.48-56.
86. Рундо, А. И. Влияние фототерапии на экспрессию сосудистого эндотелиального фактора роста в ране и цитокиновый профиль пациентов с синдромом диабетической стопы [Текст] / А.И. Рундо, В.А. Косинец // Хирургия. Восточная Европа. – 2019. – Т. 8, № 3. – С. 386–401.
87. Саидов, М.З. Современные представления об иммунопатогенезе полипозного риносинусита [Текст] / М.З. Саидов, Б.Х. Давудова, К.М. Магомедова // Иммунология. – 2010. – № 5. – С. 261–269.
88. Синдром диабетической стопы (эпидемиология, патофизиология, диагностика и лечение) [Текст] / В. А. Ступин, Е. В. Силина, К. А. Корейба, С. В. Горюнов. – Москва, 2019. – 192 с.
89. Симбирцев, А. С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма [Текст] / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 9–16.
90. Современные методы местного лечения ран при синдроме диабетической стопы [Текст] / М. М. Мукушев [и др.] // Прикаспийский вестник медицины и фармации. – 2021. – Т. 2, № 3. – С. 26–32.
91. Соловьева, А. Г. Системный анализ метаболического профиля крови пациентов с термической травмой. Актуальные вопросы травматологии [Текст] / А. Г. Соловьева // Вестник РАМН. – 2014. – № 1-2. – С. 22–25.
92. Спонтанная и индуцированная секреция провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и синдромом диабетической стопы [Текст] / Е. В. Ших [и др.] // Сахарный диабет. – 2020. – Т. 23, № 3. – С. 210–222.
93. Теувов, И. А. Озонотерапия в комплексном лечении синдрома диабетической стопы [Текст] / И.А. Теувов, А.А. Теувова, М.Р. Шугушхова // Перспектива – 2020 : материалы Международной научной конференции

- студентов, аспирантов и молодых учёных. В 5 томах. – Нальчик, 2020. – С. 59–62.
94. Трехдоменные антитела против фактора некроза опухоли: исследование биологической активности *in vitro* [Текст] / Е. А. [и др.] // Биоорганическая химия. – 2020. – Т. 46, № 3. – С. 261–268.
 95. Троицкая, Н. И. Анализ ассоциации полиморфизмов генов маркеров функции эндотелия и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза с развитием синдрома диабетической стопы [Текст] / Н. И. Троицкая, К. Г. Шаповалов, В. А. Мудров // *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. – 2021. – Т. 6, № 4. – С. 18–26.
 96. Ультразвуковая кавитация в лечении нейроишемической формы синдрома диабетической стопы при наличии биопленочных форм бактерий (обзор литературы) [Текст] / В. А. Митиш [и др.] // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б. М. Костючёнка. – 2020. – Т. 7, № 3. – С. 20–30.
 97. Фармакокинетика рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли альфа в составе средства доставки [Текст] / А. В. Батенева [и др.] // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2019. – Т. 19, № 3. – С. 169–177.
 98. Фисталь, Э. Я. Объективный метод изучения жизнеспособности тканей при трансплантации кровоснабжаемых лоскутов [Текст] / Э. Я. Фисталь, В. В. Солошенко, Н. Н. Фисталь // II съезд комбустиологов России : тезисы докладов. – Москва, 2008. – С. 203–204.
 99. Чекалина, Е. Н. Роль тромбоцитарного концентрата в восстановлении и регенерации тканей [Текст] / Е. Н. Чекалина // *Дентал Юг*. – 2005. – № 3 (32). – С. 23.
 100. Чумбуридзе, И. П. Использование вакууминстилляционной терапии у больных с синдромом диабетической стопы, осложненным флегмоной [Текст] / И. П. Чумбуридзе, М. Ю. Штильман, Э. Р. Задыханов // Инфекции в хирургии. – 2018. – Т. 16, № 1-2. – С. 85.

101. Шарашова, Е.Е. Применение регрессии Кокса в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS [Текст] / Е.Е. Шарашова, К.К. Холматова, М.А. Горбатова, А.М. Гржибовский // Наука и Здравоохранение.- 2017. -№6.- С. 5-27.
102. Шарипова, Э. Р. Обоснование использования рекомбинантного IL-1 β (беталейкина) у больных гнойным риносинуситом с генетически обусловленным дисбалансом цитокинов IL-1 β и IL-1RA [Текст] / Э. Р. Шарипова, Н. А. Арефьева, Л. Ф. Азнабаева // Рос. Ринология. – 2008. – № 4. – Р. 10–12.
103. Шевченко, Ю. Л. Стимуляция ангиогенеза эндогенными факторами роста [Текст] / Ю. Л. Шевченко, Г. Г. Борщев // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова. – 2018. – Т. 13, № 3. – С. 96–102.
104. Шепель, Р. Н. Новые векторы в диагностике метаболического синдрома: оценка уровня сосудистого эндотелиального фактора роста, пентраксина-3 и трансформирующего фактора роста бета [Текст] / Р. Н. Шепель, О. М. Драпкина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2019. – Т. 18, № 6. – С. 57–61.
105. Эффективность патогенетического комплексного подхода к лечению осложнений синдрома диабетической стопы [Текст] / Е. П. Кривошеков [и др.] // Colloquium-journal. – 2020. – № 10-3 (62). – С. 10–17.
106. Юдин, В. А. Патологические характеристики заживления язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы [Текст] / В. А. Юдин, А. А. Рудь // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2018. – Т. 37, № 1 S1-2. – С. 384–387.
107. Юсупова, Ш. К. Синдром диабетической стопы в клинической практике [Текст] / Ш. К. Юсупова, И. Б. Бекашев, А. Д. Дулшодов // Экономика и социум. – 2021. – № 1-2 (80). – С. 837–845.
108. Янишевский, А. В. Результаты использования миниинвазивного метода при лечении больных с гнойно-некротическими осложнениями синдрома

- диабетической стопы [Текст] / А. В. Янишевский // Известия Российской военно-медицинской академии. – 2018. – Т. 37, № 1, S1-2. – С. 405–407.
109. Ярец, Ю. И. Лабораторный прогноз риска отторжения аутодермотрансплантата [Текст] / Ю. И. Ярец, И. А. Новикова // Вестник хирургии им. И. И. Грекова. – 2010. – Т. 169, № 2. – С. 34–38.
 110. Удовиченко, О. В. Диабетическая стопа: руководство для врачей [Текст] / О. В. Удовиченко, Н. М. Грекова. – Москва, 2010. – 271 с.
 111. Ультразвуковая кавитация в лечении нейроишемической формы синдрома диабетической стопы при наличии биопленочных форм бактерий (обзор литературы) [Текст] / В. А. Митиш [и др.] // Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костючёнка. – 2020. – Т. 7, № 3. – С. 20–30.
 112. A Clinical Risk Prediction Tool for 6-Month Mortality After Dialysis Initiation Among Older Adults [Text] / J. P. Wick [et al.] // Am. J. Kidn. Dis. – 2017. – Vol. 69, N 5. – P. 568–575.
 113. Accelerated wound healing in tumor necrosis factor receptor p55-deficient mice with reduced leukocyte infiltration [Text] / R. Mori [et al.] // FASEB J. – 2002. – Vol. 16. – P. 963–974.
 114. Adeva-Andany, M. M. Insulin resistance is associated with subclinical vascular disease in humans [Text] / M. M. Adeva-Andany, E. Ameneiros-Rodríguez, C. Fernández-Fernández // World journal of diabetes. – 2019. – Vol. 10. – P. 63–77
 115. Agrillo, A. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ): 5 year experience in the treatment of 131 cases with ozone therapy [Text] / A. Agrillo // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2012. – Vol. 16, N 12. – P.1741–1747.
 116. Alavi, A. Diabetic foot ulcers: Part I. [Text] / A. Alavi // Pathophysiology and prevention. J. Am. Acad. Dermatol. – 2014. – Vol. 70, N 1. – P. 111–118.
 117. Allogeneic vs. Autologous Skin Grafts in the Therapy of Patients with Burn Injuries: Restrospective [Text] / D. Kitala [et al.] // Adv. Clin. Exp. Med. – 2016. – Vol. 25, N 5. – P. 923–929.

118. Al-Sadi, R. M. IL-1 cause an increase in intestinal epithelial tight junction permeability [Text] / R. M. Al-Sadi, T. Y. Ma // J. Immunol. – 2007. – Vol. 178. – P. 4641–4649.
119. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus [Text] // Diabetes Care. – 2009. – Vol 32, Suppl. 1. – S62–S67.
120. American Diabetes Association. Cardiovascular disease and risk management: Standards of Medical Care in Diabetes 2020 [Text] // Diabetes Care. – 2020. – Vol. 43, Suppl.1. – P. S111–S134
121. Analysis of correlation factors affecting the incidence of burn shock [Text] / J. H. Zhan [et al.] // Zhonghua Shao Shang Za Zhi. – 2006. – Vol. 22, N 5. – P. 340–342.
122. Annes, J. Making sense of latent TGF-beta activation [Text] / J. Annes, J. Munger, D. Rifkin // J. Cell. Sci. — 2003. — Vol. 116. — P. 217–224.
123. Armstrong, D. G. Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence [Text] / D. G. Armstrong, A. J. M. Boulton, S. A. Bus // N. Engl. J. Med. – 2017. – Vol. 376, № 24. – P. 2367–2375
124. Armstrong, D. G. Outcomes of subatmospheric pressure dressing therapy on wounds of the diabetic foot [Text] / D. G. Armstrong // Ostomy/Wound Management. – 2002. – Vol. 48, N 4. – P. 64–68.
125. Armstrong, D. G. Classifying diabetic foot surgery : toward a rational definition [Text] / D. G. Armstrong, R. Fryckberg // Diabetic Medicine. — 2008. — N 20. — P. 329–331.
126. Attal, N. EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision [Text] / N. Attal // Eur. J. Neurol. – 2010. – Vol. 17. – P. 1113–1118.
127. Assadian, O. Bacterial growth kinetic without the influence of the immune system using vacuum-assisted closure dressing with and without negative pressure in an in vitro wound model [Text] / O. Assadian, A. Assadian // Int. Wound Journal. – 2010. – Vol.7. – P. 283–289.

128. Baltzis, D. Pathogenesis and Treatment of Impaired Wound Healing in Diabetes Mellitus: New Insights [Text] / D. Baltzis, I. Eleftheriadou, A. Veves // *Adv Ther.* – 2014. – Vol. 31. – P. 817–836.
129. Bartkoski, S. Alpha-Lipoic Acid for Treatment of Diabetic Peripheral Neuropathy [Text] / S. Bartkoski, M. Day // *Am. Fam. Physician.* – 2016. – Vol. 93.– P. 786.
130. Bergman, S. Diabetic Foot Infections. [Text] / S. Bergman, P. J. Shah // *Diabetes/Metabolism Research and Reviews.* – 2016. – Vol. 32, N 1. – P. 246–253
131. Bioengineered skin substitutes for the management of burns: a systematic review [Text] / C. Pham [et al.] // *Burns.* – 2007. – Vol. 33. – P. 946–957.
132. Blakely, M. The Use of Best Practice in the Treatment of a Complex Diabetic Foot Ulcer: A Case Report [Text] / M. Blakely // *Healthcare (Basel).* – 2016. – Vol. 4. – P. 18.
133. Blakytyn, R. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes [Text] / R. Blakytyn, E. Jude // *Diabet. Med.* – 2006. – Vol. 23. – P. 594–608.
134. Blobel, G. Role of transforming growth factor beta in human disease [Text] / G. Blobel, W. Schiemann, H. Lodish // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 342. — P. 1350–1358.
135. Bocci, V. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug [Text] / V. Bocci // *Medicinal Research Reviews.*— 2009. – Vol. 29, N 4. – P. 646–682.
136. Bochud, P. Y. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment [Text] / P. Y. Bochud, T. Calandra // *B.M.J.* – 2003. – Vol. 326 (7383), N 1. – P. 262–266.
137. Boulton, A. J. The Pathway to Foot Ulceration in diabetes [Text] / A. J. Boulton // *Med. Clin. N. Am.* – 2013. – Vol. 97. – P. 775–790.

138. Boulton, A. J. Guidelines for the diagnosis and outpatient management of diabetic peripheral neuropathy [Text] / A. J. Boulton, F. A. Gries, J. A. Jervell // *Diabet. Med.* – 2018. – Vol. 15. – P. 508–514.
139. Burd, A. Allogenic skin: transplant or dressing? [Text] / A. Burd, P. K. Lam, Lau Henry // *Burns.* – 2002. – Vol. 28, N 3. – P. 358–366.
140. Brunner, S. Circulating angiopoietic cells and diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus, with or without macrovascular disease [Text] / S. Brunner, F. Hoellerl, K.E. Schmid-Kubista // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2011. – Vol. 52, № 7. – P. 4655–4662.
141. Cahill, P. A. Vascular endothelium - Gatekeeper of vessel health. [Text] / P. A. Cahill, E. M. Redmond // *Atherosclerosis.* – 2016. – Vol. 248. – P. 97–109.
142. Cao, Y. Mesenchymal Stem Cells Improve Healing of Diabetic Foot Ulcer [Text] / Y. Cao, X. Gang, C. Sun // *J. Diabetes Res.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 1–11.
143. Carter, V. Killer bee molecules: antimicrobial peptides as effector molecules to target sporogonic stages of Plasmodium [Text] / V. Carter // *PLoS Pathog.* – 2013. – Vol. 9. – P. 103–109.
144. Chhabra, S. Wound Healing Concepts in Clinical Practice of OMFS [Text] / S. Chhabra // *J. Maxillofac. Oral Surg.* – 2017. – Vol. 16. – P. 403–423.
145. Chen, S. Effects of vacuum-assisted closure on wound microcirculation: an experimental study [Text] / S. Chen, J. Li, X. Li // *Asian surgery.* – 2005. – Vol. 28, № 3. – P. 211–217.
146. Choi, S. M. Effects of structurally stabilized EGF and bFGF on wound healing in type I and type II diabetic mice [Text] / S. M. Choi // *Acta Biomater.* – 2017. – Vol. 66. – P. 325–334.
147. Chong, E. J. Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound healing and layered dermal reconstitution [Text] / E. J. Chong // *Acta Biomater.* – 2007. – Vol. 3. – P. 321–330.

148. Comparative Performance of ATRIA, CHADS2, and CHA2DS2-VASc Risk Scores Predicting Stroke in Patients With Atrial Fibrillation [Text] / H. A. van den Ham [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2015. – Vol. 66, N 17. – P. 1851–1859.
149. Comparison of inflammatory and systemic sources of growth factors in acute and chronic human wounds [Text] / S. Wagner [et al.] // Wound Repair Regen. – 2003. – Vol. 11. – P. 253–260.
150. Comparison of the ATRIA, CHADS2, and CHA2DS2-VASc stroke risk scores in predicting ischaemic stroke in a large Swedish cohort of patients with atrial fibrillation [Text] / S. Aspberg [et al.] // Eur. Heart J. – 2016. – Vol. 37, N 42. – P. 3203.
151. Comparison of the Prognostic Usefulness of the ESC and AHA/ACCF Risk Stratification Systems for Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy [Text] / K.M.W. Leong [et al.] // Am. J. Card. – 2018. – Vol. 121, N 3. – P. 349–355.
152. Connolly, J B. Lentiviruses in gene therapy clinical research [Text] / J. B. Connolly // Gene Ther. – 2009. – Vol. 2, № 9. – P. 1730–1734
153. Control of hypertrophic scar from inception by using xenogenic (porcine) acellular dermal matrix (ADM) to cover deep second degree burn [Text] / X. Feng [et al.] // Burns. – 2006. – Vol. 32, N 3. – P. 293–298.
154. Controlled release of bioactive doxorubicin from microspheres embedded within gelatin scaffolds [Text] / A. J. DeFalla [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. – 2006. – N 79. – P. 954–962.
155. Cortactin involvement in the keratinocyte growth factor and fibroblast growth factor 10 promotion of migration and cortical actin assembly in human keratinocytes [Text] / S. Ceccarelli [et al.] // Exp. Cell. Res. – 2007. – N 313. – P. 1758–1777.
156. Cosentino, F. 2019 ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: The Task Force for diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) [Text] / F. Cosentino // European Heart Journal. – 2020. – Vol. 41, № 2. – P. 255–323

157. Cultured autologous fibroblast and keratinocyte grafts: applications in plastic surgery [Text] / A. Scalise [et al] // J. Ann. Burns Fire Dis. – 2001. – Vol. 14, N 2. – P. 96–99.
158. Cox, A. A. Low-Dose Pulsatile Interleukin-6 As a Treatment Option for Diabetic Peripheral Neuropathy / A. A. Cox [et al.] // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2017. – Vol. 8. – P. 89.
159. Cultured keratinocytes in fibrin with decellularised dermis close porcine full-thickness wounds in a single step [Text] / H. Bannasch [et al] // Burns. – 2008. – Vol. 34. – P. 1015–1021.
160. Cytokine expression in pediatric *Helicobacter pylori* infection [Text] / A. I. Lopes [et al.] // Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. – 2005. – Vol. 12. – P. 994–1002.
161. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection [Text] / R. Rad [et al.] // Gut. – 2004. – Vol. 53. – P. 1082–1089.
162. Cytocompatibility of regenerated silk fibroin film: a medical biomaterial applicable to wound healing [Text] / T. L. Liu [et al.] // J. Zhejiang Univ. Sci. B. – 2010. – Vol. 116, N 1. – P. 10–16.
163. Dantez, E. Surgical treatment of severe burn with the VAC system and integra [Text] / E. Dantez, E. Meaudre, P. Goutorbe // Abstracts of 12 th Congress of the European Burns Association: – Budapest, 2007. – P. 16.
164. De Alencar Fonseca Santos J. Effects of Low-Power Light Therapy on the Tissue Repair Process of Chronic Wounds in Diabetic Feet [Text] / J. De Alencar Fonseca Santos [et al.] // Photomed. Laser Surg. – 2018. – Vol. 36. – P. 298–304.
165. Differential effect of burn injury on fibroblasts from wounds and normal skin [Text] / B. Nedelec [et al.] // Plast. Reconstr Surg. – 2007. – Vol. 119, N 7. – P. 2101–2109.
166. Dubsky, M. Risk factors for recurrence of diabetic foot ulcers: prospective follow-up analysis in the Eurodiale subgroup [Text] / M. Dubsky [et al.] // Int. Wound J. – 2013. – N 10. – P. 555–561.

167. Dumville, J. C. Hydrocolloid dressings for healing diabetic foot ulcers [Text] / J. C. Dumville, S. Deshpande, S. O'Meara // Cochrane Database Syst Rev. – 2013. – N 8. – P. 1–43.
168. Dumville, J. C. Hydrogel dressings for healing diabetic foot ulcers [Text] / J. C. Dumville, S. O'Meara, S. Deshpande // Cochrane Database Syst Rev. – 2013. – N 7. – P. 1–54.
169. Effect of *Helicobacter pylori* infection on IL-8, IL-1 beta and COX-2 production in patients with chronic gastritis and gastric cancer [Text] / W. Bartchewsky Jr. [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 44. – P. 154–161.
170. Effect of venous ulcer exudates on angiogenesis in vitro [Text] / S. L. Drinkwater [et al.] // Br. J. Surg. – 2002. – Vol. 89. – P. 709–713.
171. Effects of escharectomy during shock stage on tissue high mobility group box-1 expression and balance of pro-/anti-inflammatory response in rats after severe thermal injury [Text] / Z. T. Wang [et al.] // Zhonghua Wai Ke Za Zhi. – 2004. – Vol. 42, N 14. – P. 839–844.
172. Effects of exogenous interferon gamma on patients with treatment-resistant chronic rhinosinusitis and dysregulated interferon gamma production: a pilot study [Text] / H. Jyonouchi [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2003. – Vol. 129, N 5. – P. 563–569.
173. El-Omar, E. The importance of interleukin-1 in *Helicobacter pylori* associated disease [Text] / E. El-Omar // Gut. – 2001. – Vol. 48. – P. 743–747.
174. Enhanced gastric IL-18 mRNA expression in *Helicobacter pylori* infected children is associated with macrophage infiltration, IL-8, and IL-1 beta mRNA expression [Text] / K. Dzierzanowska-Fangrat [et al.] // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2008. – Vol. 20. – P. 314–319.
175. Expression of epidermal growth factor receptor and its ligands in chronic sinusitis [Text] / H. M. Lee [et al.] // Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. – 2003. – Vol. 112. – P. 132–138.
176. Ennis, W. J. Ultrasound therapy for recalcitrant diabetic foot ulcers: results of a randomized, double-blind, controlled, multi-center study. MIST Ultrasound

- Diabetic Study Group [Text] / W. J. Ennis, P. Foreman // *Ostomy Wound Manage.* — 2005. — Vol. 51, № 8. — P. 24—39.
177. Ertugrul, B. M. An Assessment of Intralesional Epidermal Growth Factor for Treating Diabetic Foot Wounds The First Experiences in Turkey [Text] / B. M. Ertugrul, B. A. Lipsky, U. Guvenc // *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.* — 2017. — N 107. — P. 17–29.
 178. Falanga, V. Classifications for wound bed preparation and stimulation of chronic wounds [Text] / V. Falanga // *Wound Repair Regen.* — 2000. — Vol. 8, N 5. — P. 347–352.
 179. Falanga, V. Advanced treatments for non-healing chronic wound [Text] / V. Falanga // *The Journal of the European Wound Management Association.* — 2004. — Vol. 4, N 2. — P. 4–6.
 180. Falanga, V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot [Text] / V. Falanga // *Lancet.* — 2005. — Vol. 366. — P. 1736–1743.
 181. Fejfarova, V. An Alteration of Lymphocytes Subpopulations and Immunoglobulins Levels in Patients with Diabetic Foot Ulcers Infected Particularly by Resistant Pathogens [Text] / V. Fejfarova // *J. Diabetes Res.* — 2016. — N 16. — P. 56–58.
 182. Filius, P. M. Impact of increasing antimicrobial resistance on wound management [Text] / P. M. Filius, I. C. Gyssens // *Am. J. Clin. Dermatol.* — 2012. — N 3. — P. 1–7.
 183. First experiences with the collagen-elastin matrix Matriderm as a dermal substitute in severe burn injuries of the hand [Text] / W. Haslik [et al.] // *Burns.* — 2007. — N 33. — P. 364–368.
 184. Forsythe, R. O. Peripheral arterial disease and revascularization of the diabetic foot [Text] / R. O. Forsythe, J. Brownrigg, R. J. Hinchliffe // *Diabetes Obes. Metab.* — 2015. — N 17. — P. 435–444.
 185. Frykberg, R. G. Evaluation of tissue engineering products for the management of neuropathic diabetic foot ulcers: an interim analysis [Text] / R. G. Frykberg // *J. Wound Care.* — 2016. — N 25. — P. 18–25.

186. Functional implication of the IL-6 signaling pathway in keloid pathogenesis [Text] / M. Ghazizadeh [et al.] // J. Invest. Dermatol. – 2007. – Vol. 127. – P. 98–105.
187. Fuss, J. Prognostic value of using neutrophil-lymphocyte ratio in patients with burn injury for the diagnosis of sepsis and bacteraemia [Text] // J. Fuss, A. Voloboyeva, V. Poliovyj // Pol. Przegl. Chir. – 2018. – Vol. 15, N 5.– P.13–16.
188. Gabriel, A. A clinical review of infected wound treatment with vacuum assisted closure (R) (VAC (R)) therapy: experience and case series [Text] / A. Gabriel // Int Wound J. – 2009. – Vol.6. – P.1–25.
189. Galkowska, H. Chemokines, cytokines, and growth factors in keratinocytes and dermal endothelial cells in margin of chronic diabetic foot ulcers [Text] / H. Galkowska, U. Wojewodzka, W. L. Olszewski // Wound repair and Regeneration. – 2006. – Vol. 14. – P. 558–565.
190. Games, G. Tapentadol-ER for the treatment of diabetic peripheral neuropathy [Text] / G. Games, A. Hutchison // Consult. Pharm. – 2013. – Vol. 28. – P. 672–675.
191. Gatti, C. Endovascular treatment of diabetic peripheral arterial disease in older and oldest old patients: A retrospective study [Text] / C. Gatt, S. Cecchini, P. Fabbietti // Aging Clin. Exp. Res. – 2017. – Vol. 30. – P. 205–207.
192. Gawande, P. V. Antibiofilm and antimicrobial efficacy of Dispersin B(R)-KSL-W peptide-based wound gel against chronic wound infection associated bacteria [Text] / P. V. Gawande, K. P. Leung, S. Madhyastha // Curr. Microbiol. – 2014. – Vol. 68. – P. 635–641.
193. Geerlings, S. E. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM) [Text] / S. E. Geerlings, A. I. Hoepelman // FEMS Immunol. Med. Microbiol. – 2019. – Vol. 26. – P. 259–265.
194. Gibran, N. Diminished neuropeptide levels contribute to the impaired cutaneous healing response associated with diabetes mellitus [Text] / N. Gibran // J. Surg. Res. – 2002. – Vol. 108. – P. 122–128.

195. Gilead, L. The use of maggot debridement therapy in the treatment of chronic wounds in hospitalised and ambulatory patients [Text] / L. Gilead, K. Y. Mumcuoglu, A. Ingber // J. Wound Care. – 2012. – Vol. 21. – P. 78–85.
196. Gilligan, A. M. Cost Effectiveness of Becaplermin Gel on Wound Closure for the Treatment of Pressure Injuries [Text] / A. M. Gilligan; C. R. Waycaster; C, T. Milne // Wounds. – 2018. – Vol. 30. – P. 197–204.
197. Glagov, S. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. [Text] / S. Glagov // N. Engl. J. Med. – 2017. – Vol. 316. – P. 1371–1375.
198. Goins, A. Development of poly (1,8 octanediol-co-citrate) and poly (acrylic acid) nanofibrous scaffolds for wound healing applications / A. Goins // Biomed. Mater. – 2017. – Vol. 13. – P.15–22.
199. Goyal, A. Pattern of cutaneous manifestations in diabetes mellitus [Text] / A. Goyal // Indian J. Dermatol. – 2010. – Vol. 55, N 1. – P. 39–41.
200. Greenwood, J. E. The evolution of acute burn care – retiring the split skin graft [Text] / J. E. Greenwood // Ann. R. Coll. Surg. Engl. – 2017. – Vol. 99, N 6. – P. 432–438.
201. Grigoropoulou, P. Diabetic Foot Infections: An Update in Diagnosis and Management [Text] / P. Grigoropoulou, I. Eleftheriadou, E. B. Jude // Curr. Diabetes Rep. – 2017. – N 17. – P. 3.
202. Gugerell, A. Thrombin as important factor for cutaneous wound healing: comparison of fibrin biomatrices in vitro and in a rat excisional wound healing model [Text] / A. Gugerell // Wound Repair Regen. – 2014. – N 22. – P. 740–748.
203. Haybar, H. Endothelial Cells: From Dysfunction Mechanism to Pharmacological Effect in Cardiovascular Disease [Text] / H. Haybar, S. Shahrabi, H. Rezaeeyan // Cardiovascular toxicology. – 2019. – Vol. 19. – P. 13–22.
204. Han, S. K. Efficacy and safety of fresh fibroblast allografts in the treatment of diabetic foot ulcers [Text] / S. K. Han, H. S. Kim, W. K. Kim // Dermatol. Surg. – 2009. – N 35. – P. 1342–1348.

205. Hinchliffe, R. J. IWGDF guidance on the diagnosis, prognosis and management of peripheral artery disease in patients with foot ulcers in diabetes [Text] / R. J. Hinchliffe // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2016. – N 32. – P. 37–44.
206. Hingorani, A. The management of diabetic foot: A clinical practice guideline by the Society for Vascular Surgery in collaboration with the American Podiatric Medical Association and the Society for Vascular Medicine [Text] / A. Hingorani // *J. Vasc. Surg.* – 2016. – N 63. – P. 3–21.
207. Hirche, C. Eschar removal by bromelain based enzymatic debridement (Nexobrid(R)) in burns: An European consensus [Text] / C. Hirche // *Burns.* – 2017. – N 43. – P. 1640–1653.
208. Hong, J. P. Recombinant human epidermal growth factor (EGF) to enhance healing for diabetic foot ulcers [Text] / J. P. Hong, H. D. Jung, Y. W. Kim // *Ann. Plast Surg.* – 2006. – N 56. – P. 394–398.
209. Hyeon, Yu. Management of Pleural Effusion, Empyema, and Lung Abscess [Text] / Yu. Hyeon // *Semin. Intervent. Radiol.* – 2011. – Vol. 28, N 1. – P. 75–86.
210. Immediate Burn Excision Fails to Reduce Injury Progression [Text] / S. Macri [et al.] // *Journal of Burn Care & Research.* – 2013. – Vol. 34, N 3 – P. 153 –160.
211. IL-11RN polymorphism and cagA-positive *Helicobacter pylori* strains increase the risk of duodenal ulcer in children [Text] / D. Queiroz [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2005. – Vol. 58. – P. 892–896.
212. Immunohistochemical localization of cytokines and cell adhesion molecules in maxillary sinus mucosa in chronic sinusitis [Text] / T. Nonoyama [et al.] // *Auris Nasus Larynx.* – 2000. – Vol. 27, N 1. – P. 51–58.
213. Improved skin wound epithelialization by topical delivery of soluble factors from fibroblast aggregates [Text] / M. Paeura [et al.] // *Burns.* – 2012. – Vol. 38, N 4. – P. 541–550.
214. Increased interleukin-10 in *Helicobacter pylori* infection could be involved in the mechanism protecting from allergy [Text] / G. Oderda [et al.] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2007. – Vol. 45. – P. 301–305.

215. Indocyanine green dye angiography accurately predicts survival in the zone of ischemia in a burn comb model [Text] / M. S. Fourman [et al.] // *Burns*. – 2014. – Vol. 40, N 5. – P. 940–946.
216. Innate immunity of the sinonasal cavity: expression of messenger RNA for complement cascade components and toll-like Receptors [Text] / J. Vandermeer [et al.] // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2004. – Vol. 130, N 12. – P. 1374–1380.
217. Initial experiences using non-cultured autologous keratinocyte suspension for burn wound closure [Text] / C. J. Zweifel [et al.] // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2008. – Vol. 61, N 9. – P. 61–64.
218. Interleukin-2 gene polymorphisms associated with increased risk of gastric atrophy from *Helicobacter pylori* infection [Text] / S. Togawa [et al.] // *Helicobacter*. – 2005. – Vol. 10. – P. 172–178.
219. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas [Text] / International Diabetes Federation. – Brussels, Belgium, 2017. – 150 p.
220. ISBI Practice Guidelines for Burn Care [Electronic resource] // *Burns*. – 2016. – Vol. 42, N 5. – P. 953–1021. – URL: https://www.pubfacts.com/detail/27542292/_ISBI-Practice-Guidelines-for-Burn-Care.
221. Javed, S. Burning through the pain: Treatments for diabetic neuropathy [Text] / S. Javed, U. Alam, R. A. Malik // *Diabetes Obes. Metab.* – 2015. – Vol. 17. – P. 1115–1125.
222. Jia, G. Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction. [Text] / G. Jia, A. R. Aroor, C. Jia // *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* – 2019. – Vol. 1865. – P. 1802–1809.
223. Joao De, Masi. The influence of growth factors on skin wound healing in rats [Text] / Masi Joao De // *Braz. J. Otorhinolaryngol.* – 2016. – Vol. 82. – P. 512–521.

224. Kaisang, L. Adipose-derived stem cells seeded in Pluronic F-127 hydrogel promotes diabetic wound healing [Text] / L. Kaisang // *J. Surg. Res.* – 2017. – Vol. 217. – P. 63–74.
225. Katakura, T. CCL17 and IL-10 as effectors that enable alternatively activated macrophages to inhibit the generation of classically activated macrophages [Text] / T. Katakura, M. Miyazaki, M. Kobayashi // *J. Immunol.* – 2004. – Vol. 172. – P. 1407–1413.
226. Katari, R. Tissue engineering and regenerative medicine: semantic considerations for an evolving paradigm [Text] / R. Katari, A. Peloso, G. Orlando // *Front. Bioeng. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 2. – P. 57.
227. Kaviani, A. A randomized clinical trial on the effect of low-level laser therapy on chronic diabetic foot wound healing: a preliminary report [Text] / A. Kaviani // *Photomed. Laser Surg.* – 2011. – Vol. 29. – P. 109–114.
228. Kenney, W. R. Effects of pancreatic transplantation on diabetic neuropathy [Text] / W. R. Kenney // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 22. – P. 1031–1037.
229. Keratinocyte derived growth factors play a role in the formation of hypertrophic scars [Text] / F. B. Niessen [et al.] // *J. Pathol.* – 2001. – Vol. 194. – P. 207–216.
230. Kim, J. W. Fabrication of bi-layer scaffold of keratin nanofiber and gelatin-methacrylate hydrogel: Implications for skin graft [Text] / J. W Kim // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2017. – Vol. 105. – P. 541–548.
231. Kim, J. W. The effects of topical mesenchymal stem cell transplantation in canine experimental cutaneous wounds [Text] / J. W Kim // *Vet. Dermatol.* – 2013. – Vol. 24. – P. 242–253.
232. Kishimoto, T. Interleukin-6: discovery of pleiotropic cytokine [Text] / T. Kishimoto // *Arthritis Res. Ther.* – 2006. – Vol. 8, suppl. 2. – P. 2–14.
233. Koehler, J. Alkaline poly(ethylene glycol)-based hydrogels for a potential use as bioactive wound dressings [Text] / J. Koehler // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2017. – Vol. 105. – P. 3360–3368.

234. Komajda, M. Efficacy and safety of ivabradine in patients with chronic systolic heart failure and diabetes: an analysis from the SHIFT trial [Text] / M. Komajda // *European journal of heart failure*. – 2015. – Vol. 17, № 12. – P. 1294–1301.
235. Komarcevic, A. The modern approach to wound treatment [Text] / A. Komarcevic // *Med. Pregl.* – 2000. – Vol. 53. – P. 363–368.
236. Krishnamurthy, P. IL-10 inhibits inflammation and attenuates left ventricular remodeling after myocardial infarction via activation of STAT3 and suppression of HuR [Text] / P. Krishnamurthy, J. Rajasingh, E. Lambers // *Circ. Res.* – 2009. – Vol. 104. – P. 9–18
237. Laato, M. Epidermal growth factor increases collagen production in granulation tissue by stimulation of fibroblast proliferation and not by activation of procollagen genes [Text] / M. Laato, V. M. Kähäri, J. Niinikoski // *Biochem. J.* – 2017. – Vol. 247. – P. 385–388.
238. Lavery, L. Negative Pressure Wound Therapy With Low Pressure and Gauze Dressings to Treat Diabetic Foot Wounds [Text] / L. Lavery, D. Murdoch, P. Kim // *Journal of Diabetes Science and Technology*. – 2014. – Vol. 8, № 2. – P. 346–349.
239. Lanzer, P. Primary media sclerosis Mönckeberg: Diagnostic criteria [Text] / P. Lanzer // *Cor. Vasa*. – 2017. – Vol. 60. – P. 205–208.
240. Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistent of neutrophils and macrophages during the late phase of repair [Text] / C. Wetzler [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2000. – Vol. 115. – P. 245–253.
241. Lee, J. K. Antimicrobial efficacy of a human beta-defensin-3 peptide using an *Enterococcus faecalis* dentine infection model [Text] / J. K. Lee, Y. J. Park, K. Y. Kum // *Int. Endod. J.* – 2013. – Vol. 46. – P. 406–412.
242. Lerman, A. Endothelial function: cardiac events [Text] / A. Lerman, A.M. Zeiher // *Circulation*. – 2005. – Vol. 111. – P. 363–368.

243. Limoli, D. H. Cationic antimicrobial peptides promote microbial mutagenesis and pathoadaptation in chronic infections [Text] / D. H. Limoli // *PLoSPathog.* – 2014. – N 10. – P.104–108.
244. Lozano, D. D. The effect of a fibroblast derived skin substitute on keratinocyte proliferation [Text] / D. D. Lozano // *Burns.* – 2007. – Vol. 33, N 1. – P. 62–63.
245. Lozano-Platonoff, A. The gold standard in diabetic foot treatment: Total contact cast [Text] / A. Lozano-Platonoff, M. D. F. Mejía-Mendoza, M. Ibáñez-Doria // *Gac. Med. Mex.* – 2014. – Vol. 150. – P. 58–64.
246. Loots, M. A. Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds [Text] / M. A. Loots, E. N. Lamme, J. Zeegelaar // *J. Invest Dermatol.* – 1998. – Vol. 111. – P. 850–857.
247. Maione, A. G. Altered ECM deposition by diabetic foot ulcer-derived fibroblasts implicates fibronectin in chronic wound repair [Text] / A. G. Maione // *Wound Repair Regen.* – 2016. – Vol. 24. – P. 630–643.
248. Mancini, G. B. J. Impact of treatment strategies on outcomes in patients with stable coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus according to presenting angina severity: a pooled analysis of three federally-funded randomized trials [Text] / G. B. J. Mancini // *Atherosclerosis.* – 2018. – Vol. 277. – P. 186–194.
249. Marfia, G. Mesenchymal stem cells: Potential for therapy and treatment of chronic non-healing skin wounds [Text] / G. Marfia // *Organogenesis.* – 2015. – Vol. 11. – P. 183–206.
250. Markakis, K. The diabetic foot in 2015: An overview [Text] / K. Markakis, F. L. Bowling, A. J. Boulton // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2016. – Vol. 32. – P. 169–178.
251. Martínez-Sánchez, G. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot [Text] / G. Martínez-Sánchez // *European Journal of Pharmacology.* – 2005. – Vol. 523. – P. 151–161.

252. Meaume, S. Cost-effectiveness of wound management in France: Pressure ulcers and venous leg ulcers [Text] / S. Meaume, E. Gemmen // J. Wound Care. – 2012. – Vol. 11. – P. 219–224.
253. Meletis, G. Carbapenem resistance: Overview of the problem and future perspectives [Text] / G. Meletis // Ther. Adv. Infect. Dis. – 2016. – Vol. 3. – P. 15–21.
254. Mendes, J. J. A rat model of diabetic wound infection for the evaluation of topical antimicrobial therapies [Text] / J. J. Mendes, C. I. Leandro, D. P. Bonaparte // Comp. Med. – 2012. – Vol. 62. – P. 37–48.
255. Mendes, J. J. Wound healing potential of topical bacteriophage therapy on diabetic cutaneous wounds [Text] / J. J. Mendes // Wound Repair. Regen. – 2013. – Vol. 21. – P. 595–603.
256. Mitogen-activated protein kinases and nuclear factor- κ B regulate Helicobacter pylori-mediated interleukin-8 release from macrophages [Text] / A. Bhattacharyya [et al.] // Biochem. J. – 2002. – Vol. 8. – P. 121–129.
257. Mitra, R. Suppression of macrophage function in AK-5 tumor transplanted animals: role of TGF- β 1 [Text] / R. Mitra, A. Khar // Immunol. Lett. – 2004. – Vol. 91. – P. 189–195.
258. Miyaguchi, S. I. Effects of Covering Surgical Wounds with Polyglycolic Acid Sheets for Posttonsillectomy Pain [Text] / S. I. Miyaguchi // Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2016. – Vol. 155. – P. 876–878.
259. Modalities for the Assessment of Burn Wound Depth [Text] / L. Devgan [et al.] // Journal of burns and wounds. – 2006. – N 5. – P. 1–9.
260. Moffarah, A. S. Diagnostic microbiology of the immunocompromised host: skin and soft tissue infection [Text] / A. S. Moffarah,; M. Al Mohajer, B. L. Hurwitz // Microbiol Spectrum. – 2016. – N 4. – P. 1–17.
261. Momeni, M. In vitro and in vivo investigation of a novel amniotic-based chitosan dressing for wound healing [Text] / M. Momeni // Wound Repair Regen. – 2018. – N 26. – P. 87–101.

262. Moutschen, M. P. Impaired immune responses in diabetes mellitus: Analysis of the factors and mechanisms involved. Relevance to the increased susceptibility of diabetic patients to specific infections. [Text] / M. P. Moutschen, A. J. Scheen, P. J. Lefebvre // *Diabete Metab.* – 2019. – N 18. – P. 187–201.
263. Nelson, E. A. A series of systematic reviews to inform a decision analysis for sampling and treating infected diabetic foot ulcers [Text] / E. A. Nelson, S. O'Meara, D. Craig // *Health Technol. Assess.* – 2006. – N 10. – P. 1–221.
264. Netten, J. The future for diabetic foot ulcer prevention: A paradigm shift from stratified healthcare towards personalized medicine [Text] / J. van Netten, J. Woodburn, S. Bus // *Diabetes Metab Res Rev.* – 2020. – Vol. 36. – P. 23–24.
265. Nomura, S. Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes [Text] / S. Nomura, A. Shouzu, S. Omoto // *Clin. Exp. Immunol.* – 2000. – Vol. 121. – P. 437–443.
266. O'Garra, A. Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease [Text] / A. O'Garra, F. J. Barrat, A. G. Castro // *Immunol Rev.* – 2008. – Vol. 223. – P. 114–131.
267. Ornitz, D. M. Fibroblast growth factors [Text] / D. M. Ornitz, N. Itoh // *Genome Biolog.* – 2001. – Vol. 2, N 3. – P. 3005.1–3005.12.
268. Oses, C. Preconditioning of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells with deferoxamine increases the production of pro-angiogenic, neuroprotective and anti-inflammatory factors: Potential application in the treatment of diabetic neuropathy [Text] / C. Oses, B. Olivares, M. Ezquer // *PLoS ONE.* – 2017. – N 12. – P. 17–18.
269. P63 is essential for the proliferative potential of stem cells in stratified epithelia [Text] / M. Senoo [et al.] // *Cell.* – 2007. – Vol. 129, N 3. – P. 523–536.
270. Park, S. N. Evaluation of antibiotic loaded collagen-hyaluronic acid matrix as a skin substitute [Text] / S. N. Park, J. K. Kim, H. Suh // *Biomaterials.* – 2004. – N 25. – P. 3689–3698.

271. Pawankar, R. Inflammatory Mechanisms and Remodeling in Chronic Rhinosinusitis and Nasal Polyps [Text] / R. Pawankar, M. Nonaka // *Current Allergy and Asthma Reports*. – 2007. – Vol. 7. – P. 202–208.
272. Piaggese, A. Comparison of Removable and Irremovable Walking Boot to Total Contact Casting in Offloading the Neuropathic Diabetic Foot Ulceration [Text] / A. Piaggese, C. Goretti, E. Iacopi // *Foot Ankle Int*. – 2016. – N 37. – P. 855–861.
273. Pomposelli, F. B. Dorsalis pedis arterial bypass: Durable limb salvage for foot ischemia in patients with diabetes mellitus [Text] / F. B. Pomposelli // *J. Vasc. Surg*. – 2015. – N 21. – P. 375–384.
274. Porcine xenografts vs. (cryopreserved) allografts in the management of partial thickness burns: Is there a clinical difference? [Text] / M. H. Hermans [et al.] // *Burns*. – 2014. – Vol. 40, N 3. – P. 408–415.
275. Pradhan, L. Inflammation and neuropeptides: The connection in diabetic wound healing [Text] / L. Pradhan, C. Nabzdyk, N. D. Andersen // *Expert Rev. Mol. Med*. – 2009. – N 11. – P. 2.
276. Rahim, K. Bacterial Contribution in Chronicity of Wounds [Text] / K. Rahim, S. Saleha, X. Zhu // *Microb. Ecol*. – 2017. – N 73. – P. 710–721.
277. Raghavan, S. CD4⁺ CD25⁺ suppressor T cell regulate pathogen induced inflammation and disease [Text] / S. Raghavan, J. Holmgren // *FEMS Immunol. Medical Microbiol*. – 2005. – Vol. 44. – P. 121–127.
278. Registered Nurses' Association of Ontario [Text] // *Assessment and Management of Foot Ulcers for People with Diabetes* / Registered Nurses' Association of Ontario. – 2nd ed. – Toronto, ON, Canada, 2013. – Vol. 1. – P.160.
279. Relationship between IL-1beta gene polymorphism and gastric mucosal IL-1beta levels in patients with *Helicobacter pylori* infection [Text] / J. Xuan [et al.] *J. Gastroenterol*. – 2005. – Vol. 40. – P. 796– 801.
280. Ren, M. Effect of intensive nursing education on the prevention of diabetic foot ulceration among patients with high-risk diabetic foot: a follow-up analysis [Text] / M. Ren, C. Yang, D. Z. Lin // *Diabetes Technol. Ther*. – 2014. – Vol. 16. – P. 576–581.

281. Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor [Text] / A. R. C. Lee [et al.] // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26. – P. 4670–4676.
282. Rodriguez, A. Phenotypical differences in connective tissue cells emerging from microvascular pericytes in response to overexpression of PDGF-B and TGF- β 1 in normal skin in vivo / A. Rodriguez // *Am J Pathol*. – 2013. – Vol. 182. – P. 2132–2146.
283. Saeed, S. Utility of (9)(9)mTc-labelled antimicrobial peptide ubiquicidin (29-41) in the diagnosis of diabetic foot infection [Text] / S. Saeed, J. Zafar, B. Khan // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. – 2013. – Vol. 40. – P. 737–743.
284. Santoro, M. M. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelization during wound healing [Text] / M. M. Santoro, G. Gaudino // *Exp. Cell Res*. – 2005. – Vol. 304. – P. 274–286.
285. Santos, R. Guar gum as a new antimicrobial peptide delivery system against diabetic foot ulcers *Staphylococcus aureus* isolates [Text] / R. Santos // *J. Med. Microbiol*. – 2016. – Vol. 65. – P. 1092–1099.
286. Sequential cytokine therapy for pressure ulcers: clinical and mechanistic response [Text] / M. C. Robson [et al.] // *Ann. Surg*. – 2000. – Vol. 231. - N 4. – P. 600–611.
287. Seo, E. Exendin-4 in combination with adipose-derived stem cells promotes angiogenesis and improves diabetic wound healing [Text] / E. Seo, J. S. Lim, J. B. Jun // *J. Transl. Med*. – 2017. – Vol. 15. – P. 35.
288. Sherman, R. A. Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy [Text] / R. A. Sherman // *Diabetes Care*. – 2013. – Vol. 26. – P. 446–451.
289. Shin, Y. C. Hyaluronic Acid/PLGA Core/Shell Fiber Matrices Loaded with EGCG Beneficial to Diabetic Wound Healing [Text] / Y. C. Shin // *Adv. Healthc. Mater*. – 2016. – Vol. 5. – P. 3035–3045.

290. Smads regulate collagen gel contraction by human dermal fibroblasts [Text] / K. Sumiyoshi [et al.] // Br. J. Dermatol. – 2003. – Vol. 149. – P. 464–470.
291. Smith, E. Multiple fragments related to angiostatin and endostatin in fluid from venous leg ulcers [Text] / E. Smith, R. Hoffman // Wound Repair Regen. – 2005. – Vol. 13. – P. 148–157.
292. Singh, S. K. Choices and Challenges of Antibiotics Therapy in Diabetic Foot Infection [Text] / S. K. Singh, B. Gupta // Indian J. Endocrinol. Metab. – 2017. – Vol. 21. – P. 647–648.
293. Sorg, H. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts [Text] / H. Sorg, D. J. Tilkorn, S. Hager // Surg Res. – 2017. – Vol. 58, №1–2. – P. 81–94.
294. Sridharan, K. Growth factors for diabetic foot ulcers: Mixed treatment comparison analysis of randomized clinical trials [Text] / K. Sridharan, G. Sivaramakrishnan // Br. J. Clin. Pharmacol. – 2017. – Vol. 84. – P. 434–444.
295. Standard operating procedures for the clinical management of patients enrolled in a prospective study of Inflammation and the Host Response to Thermal Injury [Text] / G. M. Silver [et.al] // J. Burn Care Res. – 2007. – Vol. 28. - N 2. – P. 222–230.
296. Steen, E. H. The role of anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in tissue fibrosis [Text] / E. H. Steen, X. Wang, S. Balaji // Advances in wound care. – 2019. – Vol. 9, № 4. – P.184–198.
297. Straccia, M. C. Alginate hydrogels coated with chitosan for wound dressing [Text] / M. C. Straccia, G. G. d’Ayala, I. Romano // Mar. Drugs. – 2015. – Vol. 13. – P. 2890–2908.
298. Takahashi, T. A single autophosphorylation site on KDR/Flk-1 is essential for VEGF-A-dependent activation of PLC-gamma and DNA synthesis in vascular endothelial cells [Text] / T. Takahashi, S. Yamaguchi, K. Chida // *EMBO J.* – 2001. – Vol. 20. – P. 2768–2778.
299. Takeda, K. Toll-like receptors [Text] / K. Takeda, T. Kaisho, S. Akira // Annu. Rev. Immunol. – 2003. – Vol. 21. – P. 335–376.

300. Tang, H. Y. Understanding the Signaling Pathways Related to the Mechanism and Treatment of Diabetic Peripheral Neuropathy [Text] / H. Y. Tang, A. J. Jiang, J. L. Ma // *Endocrinology*. – 2019. – Vol. 160. – P. 2119–2127.
301. The progression of burn depth in experimental burns: a histological and methodological study [Text] / A. Papp [et al.] // *Burns*. – 2004. – Vol. 30, N 7. – P. 684–690.
302. The role of allogenic fibroblasts in an acute wound healing model [Text] / R. D. Price [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2004. – Vol. 113. – P. 1719–1729.
303. The role of proinflammatory cytokines in lung ischemia-reperfusion injury [Text] / B. Krishnadasan [et al.] // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2003. – Vol. 125. – P. 261–272.
304. The retention of extracellular matrix proteins and angiogenic and mitogenic cytokines in a decellularized porcine dermis [Text] / D. M. Hoganson [et al.] // *Biomaterials*. – 2010. – Vol. 31, N 26. – P. 6730–6737.
305. The use of cultured autologous fibroblasts in burn wounds healing process [Text] / I. Karchilakia [et al.] // *Burns*. – 2007. – Vol. 33, N 6. – P. 791–792.
306. The use of granulocyte-monocyte colony stimulating factor in the therapy of chronic wounds [Text] / M. Papi [et al.] // *J. Eur. Acad. Dermatol.* – 2002. – Vol. 16, suppl. 1. – P. 336.
307. Tischler, M. Platelet Rich Plasma: The use of autologous growth factors to enhance bone and soft tissue grafts [Text] / M. Tischler // *N. Y. State Dent. J.* – 2002. – Vol. 68. – P. 22.
308. Transforming growth factor-beta 1, 2, 3 and receptor type I and II in diabetic foot ulcers [Text] / E. B. Jude [et al.] // *Diabet. Med.* – 2002. – Vol. 19. – P. 440–447.
309. Transcriptional profiling of the human monocyte-to macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression [Text] / F. O. Martinez [et al.] // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 7303–7311.
310. Transplantation of microskin autografts with overlaid selectively decellularized split-thickness porcine skin in the repair of deep burn wounds [Text] / T. Sun [et al.] // *J. Burn Care Res.* – 2011. – Vol. 32, № 3. – P. 67–73.

311. Travagli, V. Topical applications of ozone and ozonated oils as anti-infective agents: an insight into the patent claims [Text] / V. Travagli, I. Zanardi, V. Bocci // *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*. – 2009. – Vol. 4, № 2. – P. 130–142.
312. The progression of burn depth in experimental burns: a histological and methodological study [Text] / A. Papp [et al.] // *Burns*. – 2004. – Vol. 30, N 7. – P. 684–690.
313. The retention of extracellular matrix proteins and angiogenic and mitogenic cytokines in a decellularized porcine dermis [Text] / D. M. Hoganson [et al.] // *Biomaterials*. – 2010. – Vol. 31, N 26. – P. 6730–6737.
314. Uccioli, L. Critical limb ischemia: Current challenges and future prospects [Text] / L. Uccioli, M. Meloni, V. Izzo // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2018. – Vol. 14. – P. 63–74.
315. Van Setten, G. B. Defection of Connective Tissue Growth Factor i Human [Text] / G. B. Van Setten, T. D. Blaloc, G. Grotendonst // *Ophthalmic Research*. – 2002. – Vol. 34, N 5. – P. 306–308.
316. Velnar, T. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms [Text] / T. Velnar, T. Bailey, V. Smrkolj // *J. Int. Med. Res.* – 2009. – Vol. 37, N 5. – P. 1528–1542.
317. Venous ulcer fibroblasts respond to basic fibroblast growth factor at cell cycleprotein level [Text] / C. Seidman [et al.] // *Ann. Vasc. Surg.* – 2006. – Vol. 20. – P. 376–380.
318. Veves, A. Apligraf Diabetic Foot Ulcer, S. Graftskin, a human skin equivalent, is effective in the management of noninfected neuropathic diabetic foot ulcers: a prospective randomized multicenter clinical trial [Text] / A. Veves, V. Falanga, D. G. Armstrong // *Diabetes Care*. – 2001. – Vol. 24. – P. 290–295.
319. Viability and function of autologous and allogeneic fibroblasts seeded in dermal substitutes after implantation [Text] / N. Morimoto [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2005. – Vol. 125, N 1. – P. 56–67.

320. Wang, T. W. Organotypic keratinocyte-fibroblast cocultures on a bi layer gelatin scaffold as a model of skin equivalent [Text] / T. W. Wang, Y.C. Huang, I. S. Sun // *Biomed Sci Instrum.* – 2013. – Vol. 39. – P. 523– 528.
321. Wagner, F. W. A classification and treatment program for diabetic, neuropatic and dysvascular foot problems [Text] / F. W. Wagner // *In The American Academy of Orthopaedic Surgeons instructional course lectures.* — St. Louis : Mosby Year Book, 1979. — P. 143–165.
322. Wang, C. Reducing major lower extremity amputations after the introduction of a multidisciplinary team in patient with diabetes foot ulcer [Text] / C. Wang // *BMC Endocr. Disord.* – 2016. – Vol. 16. – P. 38.
323. Watson, J. C. Peripheral Neuropathy: A Practical Approach to Diagnosis and Symptom Management [Text] / J. C. Watson, P. J. Dyck // *Mayo Clin. Proc.* – 2015. – Vol. 90. – P. 940–951.
324. Werner, S. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines [Text] / S. Werner, R. Grose // *Physiol. Rev.* – 2003. – Vol. 83. – P. 835 – 870.
325. Werner, S. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing [Text] / S. Werner, T. Krieg, H. Smola // *J. Invest Dermatol.* – 2007. – Vol. 127, N 5. – P. 998–1008.
326. Werstuck, G. H. Hyperglycaemia is associated with impaired vasa vasorum neovascularization and accelerated atherosclerosis in apolipoprotein-E deficient mice [Text] / G. H. Werstuck, K. J. Veerman, D. E. Venegas-Pino // *Atherosclerosis.* – 2013. – Vol. 227, № 2. – P. 250–258.
327. Wetzler, C. Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair [Text] / C. Wetzler, H. Kaempfer, B. Stallmeyer // *J Invest Dermatol.* – 2000. – Vol. 115. – P. 245–247.
328. Wieman, T. J. Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplemin) in patients with nonhealing diabetic ulcers: a phase III randomized, placebo-controlled, double-

- blind study [Text] / T. J. Wieman, J. M. Smiell, Y. Su // *Diabetes Care*. – 1998. – Vol. 21. – P. 822–827.
329. Woessner, J. F. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling [Text] / J. F. Woessner // *FASEB J.* – 1991. – Vol. 5. – P. 2145–2154.
 330. Wood, F. M. The use of cultured epithelial autograft in the treatment of major burn wounds: eleven years of clinical experience [Text] / F. M. Wood, M. X. Kolybaba, P. Allen // *J. Burns*. – 2006. – Vol. 32. – P. 538–544.
 331. Wu, Z. Decellularized scaffolds containing hyaluronic acid and EGF for promoting the recovery of skin wounds [Text] / Z. Wu, Y. Tang, H. Fang // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2015. – Vol. 26. – P. 5322.
 332. Wynn, T. A. Macrophages: master regulators of inflammation and fibrosis [Text] / T. A. Wynn, L. Barron // *Semin Liver Dis.* – 2010. – Vol. 30. – P. 245–257.
 333. Xi, P. Establishment and assessment of new formulas for energy consumption estimation in adult burn patients [Text] / P. Xi, W. Kaifa // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 10. – P. 110409.
 334. Xia, Y. P. Transgenic delivery of VEGF to mouse skin leads to an inflammatory condition resembling human psoriasis [Text] / Y. P. Xia, B. Li, D. Hylton // *Blood*. – 2003. – Vol. 102, № 1. – P. 161–168.
 335. Xiao, J. Cytokines and diabetes research [Text] / J. Xiao, J. Li, L. Cai // *J. Diabetes Res.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 920613.
 336. Yao, Y. A comparative study on wound healing treated by different doses of bovine basic fibroblast growth factor (bFGF) [Text] / Y. Yao, C. Fei, Z. Li // *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. – 2001. – Vol. 17, N 1. – P. 10–12.
 337. Yanai, H. A crosstalk between macroangiopathy and microangiopathy in type 2 diabetes [Text] / H. Yanai, H. Hamasaki, S. Moriyama // *Int J Cardiol.* – 2013. – Vol. 168, N 1. – P. 550–551.
 338. Zamora Rodríguez, Z. B. Antioxidant mechanism is involved in the gastroprotective effects of ozonized sunflower oil in ethanol-induced ulcers in

- rats [Text] / Z. B. Zamora Rodríguez // *Mediators of Inflammation*. – 2007. – Vol. 7. – P. 65873
339. Zhao, L. pH and Glucose Dual-Responsive Injectable Hydrogels with Insulin and Fibroblasts as Bioactive Dressings for Diabetic Wound Healing [Text] / L. Zhao, L. Niu, H. Liang // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2017. – Vol. 9. – P. 37563–37574.
340. Zuo, Y. Dermis, acellular dermal matrix, and fibroblasts from different layers of pig skin exhibit different profibrotic characteristics: evidence from in vivo study [Text] / Y. Zuo, S. Lu // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 14, N 8. – P. 23613–23627.