

Эффективность лечения длительно не заживающих ран и язв кожи методом аппликационного и инъекционного введения аутологичной, богатой тромбоцитами плазмы

Н.В. Просянникова¹, Е.В. Липова¹, К.А. Покровский²

¹ФГБУ «Поликлиника №1» УД Президента РФ, ²Городская клиническая больница № 67 им. Л.А. Ворохобова

Проведено клиническое исследование, посвященное оценке эффективности применения аутологичной, богатой тромбоцитами плазмы в лечении длительно не заживающих ран кожи. В исследовании приняли участие 65 человек (1-я группа – 25 пациентов с длительно не заживающими ранами кожи нижних конечностей, вызванными хронической венозной недостаточностью – ХВН, 2-я группа – 20 пациентов с хроническими ранами, образовавшимися вследствие диабетической ангиопатии, контрольная группа – 20 больных ХВН с хроническими ранами). После подписания информированного добровольного согласия пациентам применили метод введения аутологичной, богатой тромбоцитами плазмы. Степень уменьшения площади раневой поверхности за сутки у больных 1-й группы составила в среднем $3,1 \pm 0,4\%$, у больных 2-й группы – $3,1 \pm 0,4\%$, в контрольной группе – $1,1 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$). У больных из основных групп, у которых рана существует меньше 6 мес, скорость заживления была статистически достоверно выше ($3,8 \pm 0,6$), чем у больных, у которых рана существует больше года ($2,7 \pm 0,3$) ($p < 0,05$). У больных из основных групп в возрасте от 56 до 75 лет скорость заживления раны ($3,7 \pm 0,6$) оказалась достоверно выше, чем в возрастной группе от 76 до 95 лет ($2,2 \pm 0,5$) ($p < 0,05$). На 14-й день по результатам гистологического исследования произошла активизация процесса ранозаживления. Не отмечено случаев нежелательных эффектов, появления гипертрофических рубцов, аномального формирования ткани. Наиболее часто из отделяемого раны высеивалась монокультура *Staphylococcus aureus*. Микроорганизмы отличались высокой антибиотикорезистентностью. Наиболее часто на 14-й день лечения по сравнению с 1-м днем выделялся другой вид микроорганизма либо микробная обсемененность оставалась на прежнем уровне.

Ключевые слова: длительно не заживающая рана кожи, трофическая язва, аутологичная плазма, богатая тромбоцитами, фактор роста.

Abstract: we have made a clinical research concerning the use of platelet rich plasma in 25 patients with chronic cutaneous nonhealing wounds. Patients were classified into 3 groups (25 patients with nonhealing cutaneous wounds of the lower limbs because of chronic venous insufficiency, 20 patients with chronic wounds because of diabetic angiopathy and 20 patients of the control group with chronic venous insufficiency- caused chronic wounds. After informed consent was obtained, patients received autologous PRP. Decrease of wound surface per day in patients of the 1 group was $3,1 \pm 0,4\%$, in the 2 group – $3,1 \pm 0,4\%$, in the control group – $1,1 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$). Decrease of wound surface per day in patients who have chronic wound less than 6 month was $3,8 \pm 0,6$, more than 1 year $2,7 \pm 0,3$ ($p < 0,05$). Decrease of wound surface per day in patients in age group 56–75 was $3,7 \pm 0,6$, in age group 76–95 – $2,2 \pm 0,5$ ($p < 0,05$). After 14 days was observed the activation of the regeneration. There was no abnormal tissue formation or hypertrophic scarring. The most frequent microorganism in wound was *Staphylococcus aureus*. Microorganisms had a high level of resistance to antibiotics. In the 2 plating (the 14th day) mostly was another microorganism or the same one in the same level.

Key words: chronic cutaneous nonhealing wounds, autologous platelet rich plasma, PRP, growth factor.

Регенерация раны – комплексный и динамичный процесс [5]. В норме процесс заканчивается полной эпителизацией раны. Однако на регенерацию могут влиять различные факторы как со стороны пациента (сопутствующие заболевания, снижение иммунной реактивности и т.д.), так и со стороны раны (присоединение вторичной инфекции, несостоятельность кровоснабжения поврежденной области и т.д.), препятствующие заживлению [6]. Это представляет собой сложную проблему для современного здравоохранения, поскольку далеко не всегда существующие стандартные методики оказываются эффективными, что обуславливает необходимость освоения новых, перспективных средств и методов для лечения длительно не заживающих ран кожи [9].

Более того, проблема длительно не заживающих ран и язв различной этиологии носит междисциплинарный характер, ее решением заняты врачи различных медицинских специальностей – оториноларингологи, кардиологи, нейрохирурги, сосудистые хирурги, урологи, гинекологи, ортопеды, травматологи, офтальмологи, общие хирурги, стоматологи и др. В частности, данная проблема имеет большое значение для дерматологов, так

как, помимо пациентов с собственно дерматологическими заболеваниями, приводящими к формированию длительно не заживающих ран кожи, в дерматологический стационар зачастую поступают больные, у которых причиной длительно не заживающих ран кожи являются сосудистая патология и/или эндокринопатии, например, пациенты с диабетической стопой. Таким образом, не вызывает сомнения острая необходимость тесного взаимодействия врачей различных специальностей с целью повышения эффективности оказания медицинской помощи пациентам с длительно не заживающими ранами кожи и язвами различной этиологии.

Данная патология сложна еще и тем, что больные длительно и нередко безуспешно лечатся консервативно, так как им отказывают в оперативном лечении из-за незажившей трофической язвы. В то же время убрать причину заболевания можно только хирургическим путем. Зачастую не удается разорвать этот порочный круг, и больные вынуждены всю жизнь страдать от незаживающих ран и язв [1].

Перспективным в терапии длительно не заживающих ран кожи является применение аутологичной, бога-

той тромбоцитами плазмы (БТП) [4]. Аутологичная БТП (PRP) или аутологичная плазма, богатая факторами роста (PRGF), по сути дела, это увеличенная в несколько раз концентрация аутологичных тромбоцитов, взвешенных в небольшом количестве собственной плазмы, после центрифугирования [2].

Факторы роста (ФР), заключенные в специальные секреторные гранулы тромбоцитов – альфа-гранулы, включают в себя: фактор роста тромбоцитов (PDGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), тромбоцитарный ангиогенный фактор роста (PDAF), трансформирующий фактор роста бета (TGF- β). Высвобождение этих факторов инициируется активацией тромбоцитов, которые в свою очередь активизируются различными веществами-стимуляторами, такими как тромбин, хлорид кальция или коллаген. Факторы роста играют ключевую роль в заживлении ран и регенеративных процессах, таких как хемотаксис, пролиферация, дифференцировка и ангиогенез [3, 7, 9].

Аутологичная БТП более 20 лет с успехом используется в различных странах мира не только для лечения ран кожи, но и в стоматологии, челюстно-лицевой хирургии, ортопедии и травматологии, косметологии и пластической хирургии, а также для шунтирования сосудов сердца [8].

Целью настоящего исследования явилось определение эффективности применения аутологичной БТП в лечении длительно не заживающих ран кожи нижних конечностей.

Материалы и методы

В настоящем исследовании аутологичную БТП получали с помощью центрифуги PRGF modelSystem IV, BTI, Spain путем однократного медленного центрифугирования.

Из периферической вены пациента в 4 специальные вакуумные пробирки, по 9 мл каждая, содержащих 3,8% раствор тринатрия цитрата, забирали 36 мл крови и центрифугировали ее в течение 8 мин. В результате вращения кровь в пробирках разделялась на три слоя: нижний слой – эритроциты, средний слой – прослойка лейкоцитов, верхний слой – плазма, обогащенная тромбоцитами, которую также можно было разделить на 3 слоя: верхний слой – 2 мл – плазма, в которой концентрация тромбоцитов равна таковой в крови, средний слой – 1 мл – богатая тромбоцитами плазма (в 2–3 раза превышающая физиологическую концентрацию), нижний слой – 1 мл – плазма, наиболее богатая тромбоцитами. С помощью дозатора забирали верхний слой плазмы, 2 мл, из каждой пробирки в отдельную пробирку. Затем средний слой, 1 мл в отдельную пробирку, и нижний слой, 1 мл, также в другую пробирку. Затем из последней пробирки отливали 2 мл, добавляли хлорид кальция, тщательно перемешивали и набирали в 2 инсулиновых шприца по 1 мл каждый. Далее обкалывали рану по периферии (20 уколов по 0,1 мл).

Затем смешивали плазму из среднего и оставшегося нижнего слоя в одной пробирке и добавляли хлорид кальция в том же соотношении и перемешивали. Далее плазму переливали в чашку Петри и ставили в термостат с температурой 37°C до образования фибриновой пленки (около 30 мин). После этого плазму в виде аппликации

прикладывали на раневой дефект и закрывали сухой салфеткой на 24 ч.

В исследовании приняло участие 60 человек в возрасте от 56 до 95 лет, у которых имелась рана кожи нижних конечностей, не заживающая более 4 нед, возникшая вследствие либо хронической венозной недостаточности, либо диабетической ангиопатии. В зависимости от этого были выделены 3 группы пациентов с желтыми, длительно не заживающими язвами кожи нижних конечностей. 1-ю группу составили 25 пациентов с желтыми, длительно не заживающими ранами кожи нижних конечностей, вызванными хронической венозной недостаточностью, во 2-ю группу вошли 25 пациентов с длительно не заживающими желтыми ранами кожи нижних конечностей, возникшими вследствие диабетической ангиопатии. При наличии нескольких этиологических факторов, приведших к формированию длительно не заживающей раны, группа исследования будет выбрана по превалирующему фактору. Доказано, что лечение больных с длительно не заживающими язвами, возникшими на фоне хронической венозной недостаточности, наиболее эффективно, поэтому 3-ю группу – контрольную – составили 25 больных хронической венозной недостаточностью с длительно не заживающими желтыми язвами.

Всем больным до лечения был проведен комплекс лабораторно-инструментальных исследований (клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма крови, электрокардиография, эхокардиография, доплерография сосудов нижних конечностей).

Также до и после лечения был сделан микробиологический посев отделяемого язвы на питательные среды с целью установления этиологически значимых микроорганизмов, вызвавших инфицирование раны.

У пациентов 1-й и 2-й групп применяли аутологичную БТП в виде инъекций (20 уколов по 0,1 мл) в края раны, а также в виде аппликации на всю поверхность язвенного дефекта (фибриновая пленка), затем язву закрывали сухой салфеткой на 24 ч.

Через 24 ч рану вновь открывали и до следующей процедуры (в течение недели) каждый день проводили традиционный туалет раны (перевязка с раствором антисептика). Ввиду субъективизма и, как следствие, недостаточной точности при последующей интерпретации результатов лечения при оценке эффективности методики по характеру болевых ощущений или визуально по состоянию самой раны, раневого отделяемого и окружающих тканей мы оценивали клиническую эффективность только с помощью объективных методов исследования – методом контактной планиметрии, с учетом краевой и очаговой эпителизации, а также с применением гистологического метода. Уменьшение площади ран в процессе лечения оценивали в процентах по методике, предложенной Л.Н. Поповой (1942).

Лечение язв у пациентов контрольной группы проводили традиционно в соответствии с медико-экономическими стандартами.

Результаты и обсуждение

Одним из критериев оценки эффективности лечения трофических язв была выбрана степень уменьшения площади язвенной поверхности за сутки.

Степень уменьшения площади язвенной поверхности за сутки у больных 1-й основной группы составила в среднем $3,1 \pm 0,4\%$ ($p < 0,05$); 2-й основной группы – $3,1 \pm 0,4\%$ ($p < 0,05$), контрольной группы – $1,1 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$).

Полученные результаты говорят о статистически достоверном увеличении скорости заживления язв у больных 1-й и 2-й основных групп по сравнению с контрольной. Так, степень уменьшения площади язвенной поверхности за сутки у больных 1-й и 2-й основных групп была одинакова и составила в среднем по $3,1 \pm 0,4\%$, что примерно в 3 раза превышает данный показатель в контрольной группе, где степень уменьшения площади язвенной поверхности за сутки составила в среднем $1,1 \pm 0,3\%$.

Данные результаты свидетельствуют о том, что применение БТП на трофические язвы оказало существенное влияние на раневой процесс в виде улучшения процессов регенерации и ускорения заживления язвенных дефектов. Учитывая, что лечение в обеих группах было однотипным и дополнительного воздействия лекарственными препаратами, стимулирующими заживление, в основных группах не проводилось, полученные результаты можно связать с действием аутологичной БТП.

Через 5 нед от начала лечения трофические язвы в 1-й основной группе полностью зажили у 13 (52%) больных. Среди неэпителизовавшихся язв площадь последних уменьшилась более чем на 50% у 8 (32%) больных. Менее чем на 50% площадь трофических язв уменьшилась у 4 (16%) больных.

Раны во 2-й основной группе полностью зажили у 7 (35%) больных. У 8 (40%) больных площадь язв уменьшилась более чем на 50%. У 5 (25%) больных площадь трофических язв уменьшилась менее чем на 50%.

В контрольной группе язвы полностью зажили у 1 (5%) больного. Площадь незаживших язв уменьшилась более чем на 50% у 2 (10%) больных, менее чем на 50% – у 5 (25%) больных. Отсутствие эффекта от проводимого лечения в контрольной группе отмечено у 12 (60%) больных (рисунок).

Также было доказано, что скорость заживления у больных из основных групп, у которых рана существовала меньше 6 мес ($3,8 \pm 0,6$), была достоверно выше, чем у больных, у которых рана существовала больше года ($2,7 \pm 0,3$) ($p < 0,05$). У больных из основных групп в возрасте от 56 до 75 лет скорость заживления раны ($3,7 \pm 0,6$) оказалась достоверно выше скорости заживления в возрастной группе от 76 до 95 лет ($2,2 \pm 0,5$) ($p < 0,05$). Таким образом, можно сделать вывод, что скорость заживления ран напрямую зависит от времени, в течение которого существует рана, и от возраста больного.

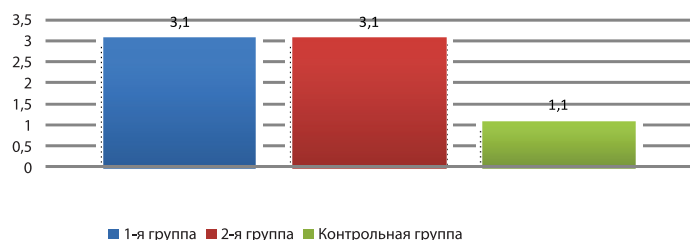


Рисунок. Степень уменьшения площади язвенной поверхности за сутки (%) у наблюдавшихся больных.

По результатам гистологического исследования, к 14-му дню по сравнению с 1-м у больных из основных групп структура ткани стала более организованной и определенной, появились столбики плотно упакованных базальных клеток. По краям раны появилась кератинизация эпидермиса. Увеличилось количество фибробластов и пучков коллагена. Начался ангиогенез. Таким образом, появилась отчетливая тенденция к эпителизации. В контрольной группе на 14-й день в некоторых случаях появилось лишь незначительное улучшение по сравнению с 1-м днем, по сравнению с основной группой не был выражен ангиогенез, было отмечено появление меньшего количества фибробластов, а также наблюдалась дезорганизация пучков коллагена.

При анализе данных бактериологического исследования установлено, что до начала лечения микроорганизмы высевались практически у всех больных 1-й и 2-й основных и контрольной групп. Исходный уровень микробной обсемененности в обеих группах был выше «критического» и составлял в среднем 10^6 – 10^8 микробных тел на 1 г ткани.

В большинстве случаев у больных была выделена монокультура. В монокультурах наиболее распространенными видами возбудителей были *Staphylococcus aureus*. Из ассоциаций наиболее распространенными видами возбудителей были ассоциации *Staphylococcus aureus* с *Klebsiella group* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Микроорганизмы отличались высокой антибиотикорезистентностью. Наибольшая резистентность (98%) выявлена к пенициллину, ампициллину, пиперациллину, наибольшая чувствительность – к меропенему, моксифлоксацину – к ним были чувствительны 80 и 77,7% микроорганизмов, высеянных из отделяемого трофических язв у больных всех групп.

В большинстве случаев в основных группах при посеве отделяемого после 14-го дня в сравнении с 1-м днем высевался другой микроорганизм. В 90% случаев это был *Staphylococcus aureus* в концентрации 10^5 микробных тел на 1 г ткани, что, вероятно, связано с тем, что золотистый стафилококк в норме входит в состав кожной биоты. Таким образом, можно предположить, что активизация процесса регенерации, вызванная введением факторов роста в рану, активизирует также и местный иммунитет. В меньшем проценте случаев уровень микробной обсемененности оставался на прежнем уровне. В единичных случаях микроорганизмы вообще не высевались, либо уровень микробной обсемененности возрастал во втором посеве по сравнению с первым, что могло быть вызвано субъективными факторами (качество забора материала, процесс транспортировки, время посева, качество среды и т.д.), либо в первом посеве микроорганизмов найдено не было, в то время как во втором посеве высевался *Staphylococcus aureus*, что, по-видимому, связано с применением до начала исследования раствора антисептика.

В контрольной группе в 50% случаев во втором посеве, сделанном на 14-е сутки, уровень микробной обсемененности незначительно превышал таковой в первом посеве. В 28,6% случаев инфицированность раны оставалась на прежнем уровне. В 10% в первом анализе микроорганизмов не обнаружено, в то время как во втором анализе они были обнаружены, что, видимо, связано с изменением подхода к лечению язв у данных пациентов. В 5% случаев ни в первом, ни во втором анализе микро-

организмов не обнаружено, что, возможно, было связано с нарушением техники проведения посева.

Таким образом, при анализе результатов бактериологического исследования получены достаточно противоречивые данные, тем не менее есть основания предполагать, что применение БТП приводит в активизации местного иммунитета в ране посредством привлечения в патологический очаг клеток иммунной системы. Однако требуется проведение дальнейших, более тщательных исследований для подтверждения или опровержения выдвинутых гипотез.

Заключение

Итак, в целом данное исследование продемонстрировало, что применение аутологичной плазмы, богатой тромбоцитами, является перспективным для решения проблемы длительно не заживающих ран кожи. Показана высокая эффективность данной методики, ее использование в практическом здравоохранении может привести к более быстрому излечению, тем самым улучшив качество жизни и уменьшив инвалидизацию пациентов, страдающих от длительно не заживающих ран кожи различной этиологии.

Литература

1. Липницкий Е.М. // *Лечение трофических язв нижних конечностей* — М.: Медицина, 2001. — С. 5–7.
2. Anitua E. // *Pract. Proced. Aesthet. Dent.* — 2001. — Vol. 13. — P. 487–493.
3. Bennett N.T., Schultz G.S. // *Am. J. Surg.* — 1993. — Vol. 165, №6. — P. 728–737.
4. Donohue K., Falanga V. // *Wounds.* — 2003. — Vol. 15, №3. — P. 71–76.
5. Dougherty E.J. // *Adv. Skin. Wound. Care.* — 2008. — Vol. 21, №12. — P. 568–575.
6. Frykberg R.G., Driver V.R., Carman D., Reese R.J. // *Ostomy Wound Manage.* — 2010. — Vol. 56, №6. — P. 36–44.
7. Khalafi R.S., Bradford D.W., Wilson M.G. // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* — 2008. — Vol. 34. — P. 360–364.
8. Marx R.E., Carson E.R., Eichstaedt R.N. et al. // *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol. Endod.* — 1998. — Vol. 85. — P. 638–646.
9. Sanchez A.R., Sheridan P.J. // *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.* — 2003. — Vol. 18, №1. — P. 93–103.