

---

[https://doi.org/10.30702/transpaorg/10\\_21.2710/1151-65/4.001.4](https://doi.org/10.30702/transpaorg/10_21.2710/1151-65/4.001.4)  
УДК 617.58-005.4-001.4-089.843-032:611.013.395:616.379-008.64

**Иванова Ю. В.**<sup>1,3</sup>, д-р мед. наук, профессор кафедры хирургии № 1, <https://orcid.org/0000-0001-8773-6827>

**Грамапюк С. Н.**<sup>2</sup>, канд. мед. наук, директор, <https://orcid.org/0000-0003-4238-7031>

**Прасол В. А.**<sup>1,3</sup>, д-р мед. наук, профессор, заведующий отделением острых заболеваний сосудов, <https://orcid.org/0000-0002-0556-6981>

**Криворучко И. А.**<sup>1</sup>, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии № 2, <https://orcid.org/0000-0002-5525-701X>

**Мясоедов К. В.**<sup>1</sup>, канд. мед. наук, ассистент кафедры хирургии № 1, <https://orcid.org/0000-0002-3878-7713>

**Зарудный О. А.**<sup>3</sup>, канд. мед. наук, заведующий отделением трансфузиологии, экстракорпоральных технологий и биоматериалов, <https://orcid.org/0000-0001-9775-8501>

**Гольцев К. А.**<sup>1</sup>, аспирант кафедры хирургии № 2

<sup>1</sup>Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

<sup>2</sup>Институт клеточной биореабилитации, г. Харьков, Украина

<sup>3</sup>ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины», г. Харьков, Украина

## Клеточные технологии в лечении хронических ран у больных с сахарным диабетом

**Резюме.** Сахарный диабет занимает третье место в общей структуре заболеваемости и часто является предиктором или сопутствующим заболеванием при критической ишемии нижних конечностей, что требует мультидисциплинарного подхода при лечении трофических язв у данной категории больных. В исследовании проанализированы результаты лечения 8 пациентов с сахарным диабетом II типа. Средний возраст больных составил  $67 \pm 3,6$  года, длительность сахарного диабета –  $11 \pm 1,4$  года. Все пациенты имели IV степень хронической ишемии конечности по Fontaine, при этом в двух случаях диагностировано сочетание артериальной и венозной патологии. После хирургической обработки гнойного очага и компенсации регионарной гемодинамики больным выполнялась перевязка раны с трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток и применением фибробластного матрикса. Разработанная методика позволила ускорить темпы заживления раны и уменьшить болевой синдром в послеоперационном периоде, а также снизить необходимость в антибактериальной терапии. Скорость заживления ран к 5-м суткам лечения составила  $0,41 \pm 0,44$ , к 12-м суткам –  $1,73 \pm 0,63$ . Средние сроки пребывания в стационаре –  $22,6 \pm 2,4$  сут.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, хронические раны, мезенхимальные стволовые клетки, фибробластный матрикс.

## Введение

В настоящее время одной из наиболее распространенных неинфекционных патологий в мире является сахарный диабет (СД), который в общей структуре заболеваемости занимает третье место, уступая лишь сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям. На его часть приходится, по данным Международной федерации диабета (IDF), 2,3–9 % населения планеты, также отмечается стойкая тенденция к росту и в будущем (World Health Organization, IDF, 2016). Схожие тенденции характерны и для Украины, где, по данным ведущих исследователей, этот показатель достигает порядка 9 % [1–4].

Сахарный диабет вызывает комплекс системных нарушений, что у более чем 70 % пациентов приводит к развитию осложнений, среди которых одно из ведущих мест принадлежит синдрому диабетической стопы (СДС), который развивается у 25 % больных, из которых у 15 % возникают гнойно-некротические процессы, угрожающие утратой опороспособности конечностей и жизни [5–8]. Не взирая на определенные успехи в профилактике и лечении СДС, ампутации нижних конечностей, как и прежде, у этого контингента составляют 40–60 % [9], а поражение конечностей у больных с СД являются основной причиной инвалидности и наносят существенные социально-экономические убытки обществу [10, 11].

Диабетическая нейропатия, ангиопатия, деформация стопы с формированием зон повышенного давления на ткани – ведущие причины развития СДС и язвенных осложнений [12, 13]. Предикторами развития гнойных осложнений на стопе являются хронические язвы, инфицированные раны и перенесенные ранее операции (Diabetic Foot Study Group, 2015). Как правило, среди условий формирования хронической раны выделяют: повторяющуюся травму, классическим примером чего являются нейропатические язвы стоп у больных с СД, ишемию (нейроишемические и ишемические формы СДС), наличие хронической персистирующей местной инфекции, избыточную продукцию протеаз в ране и сниженную активность факторов роста [14]. Любая хроническая рана характеризуется сочетанием следующих клинических признаков: наличием некрозов, отсутствием здоровой грануляционной ткани, отсутствием или вялостью краевой эпителизации, неспособностью заживать под струпом [15, 16].

Патология периферических сосудов является одним из определяющих факторов, влияющих на заживление язвенных дефектов конечностей. Особого внимания заслуживает состояние критической ишемии конечностей (КИК), представляющее собой реальную угрозу ампутации. У пациентов, страдающих СД, критическая ишемия конечностей встречается в 5 раз чаще, чем у лиц без СД. Критическая ишемия конечностей и лодыжечно-плечевой индекс  $< 0,5$  – это

---

показания к хирургической коррекции кровотока. Тактика и вид хирургического лечения определяются с учетом топической локализации, распространенности и выраженности окклюзирующего поражения артерий [17].

Наряду с нейропатией и недостаточностью периферического кровоснабжения, одной из причин длительно незаживающих ран при СД считается хроническая инфекция, которая требует длительного применения дорогостоящих антибиотиков и антисептиков. Большинство современных перевязочных средств создает адекватный барьер, предотвращая вторичное инфицирование раны с окружающих кожных покровов, и тем самым, уменьшает сроки и стоимость лечения. Инфекция при СД представляет собой угрожающее для конечности состояние, является причиной проведения экстренных ампутаций в 25–50 % случаев. В большинстве случаев возбудителями поверхностных инфекций выступают грамположительные кокки, а глубокая инфекция, особенно при наличии некрозов на фоне ишемии, обычно полимикробна и представляет собой ассоциации из аэробных и анаэробных грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [18].

Местное лечение включает хирургическую обработку раневого дефекта, механическое или химическое удаление некротической ткани и фибринозного налета, обработку краев раны и удаление гиперкератозов, вскрытие и дренирование гнойных затеков и использование специальных перевязочных материалов. Не так давно была сформулирована теория обработки основания раны «Wound Bed Preparation» [19] – стратегия обработки раны с целью перевода хронической раны в острую и удаления как некротического компонента, состоящего из некротической ткани, так и фенотипически измененных клеток края и основания раны, а также продуцируемого ими эксудата.

Несмотря на появление новых препаратов, средств местной терапии ран, расширению возможностей сосудистой хирургии, положительный результат зачастую может быть достигнут только при мультидисциплинарном подходе (совместном ведении пациентов ангиохирургами, ортопедами, гнойными хирургами, эндокринологами, кардиологами).

## **Материалы и методы**

Проанализированы результаты лечения 8 больных с хроническими ранами различной этиологии на фоне СД, которые проходили лечение в отделении острых заболеваний сосудов в клинике ГУ «Институт общей и неотложной хирургии им. В. Т. Зайцева НАМН Украины» в 2020–2021 гг. Средний возраст больных составил  $67 \pm 3,6$  года, длительность СД –  $11 \pm 1,4$  года. Все пациенты страдали СД 2-го типа, имели IV степень ишемии конечности по Fontaine, при этом в двух случаях диагностировано сочетание артериальной и венозной патологии.

---

Анализ клинических, лабораторных, неинвазивных и инвазивных методов обследования больных позволял определить степень нарушения магистрального кровотока, характер коллатерального кровообращения и микроциркуляции, уровень контаминации ран, а также фазу раневого процесса. Диагностику проводили всем больным по стандартному алгоритму:

1. Анамнез, клинико-лабораторное обследование: длительность заболевания, анализ лабораторных методов исследования и анамнеза сопутствующих заболеваний.

2. Неинвазивное обследование включало:

– определение индекса регионарного систолического давления на артериях стопы при помощи портативного ультразвукового аппарата «Super Dopplex» (Китай);

– ультразвуковая (УЗ) доплерография при помощи аппарата «Hitachi EUB 7500» (Япония) с линейным датчиком L 5–10 МГц;

– транскутанное напряжение кислорода ( $TspO_2$ ) в тканях стопы при помощи аппарата TCM 400 производства «Radiometer Copenhagen» (Дания);

– для оценки эффективности проводимого местного лечения были использованы результаты цитологических исследований отпечатков из ран и микробной обсемененности тканей гнойного очага (изучали качественный и количественный состав микрофлоры, чувствительность к антибактериальным препаратам);

– планиметрическое исследование ран в динамике.

3. Инвазивные исследования: ангиография по Seldinger с использованием аппарата «Philips Integris Allura» (Голландия).

Микробиологический мониторинг раневого отделяемого проводили согласно приказу МОЗ ССр № 535 от 22.04.1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». Идентификацию выделенных штаммов проводили общепринятыми бактериологическими методами (по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим свойствам и по признакам патогенности), придерживаясь классификации Берги (2011). Оценку антибиотикочувствительности бактерий проводили в соответствии с МУК 4.2 1890-04.

В динамике оценивали характеристики ран: динамику роста грануляций и эпителизацию ран. Планиметрическое исследование ран проводили по методике Поповой Л. Н. (1941). Относительную убыль площади поверхности раны ( $\Delta S$ , %) вычисляли по формуле (1):

$$\Delta S = (S - S_1) \times 100 / S \times t, \quad (1)$$

где:  $S$  – величина площади раны при предшествующем измерении;  
 $S_1$  – величина площади раны в настоящий момент;  $t$  – число дней.

Среди пациентов исследуемой группы 2 больным было выполнено бедренно-берцовое шунтирование, 2 больным – гибридная реконструктивная операция (бедренно-подколенная реконструкция в сочетании с баллонной ангиопластикой артерий голени), в 4 случаях – эндоваскулярные вмешательства на артериях голени. У пациентов с сочетанной артериальной и венозной патологией в качестве первого этапа выполнена баллонная ангиопластика артерий голени, вторым этапом была проведена склерооблитерация несостоятельных перфорантных вен под УЗ-навигацией (в качестве флeбосклерозанта использовали «Этоксисклерол» 3 %, пену получали по методике Tessari (соотношение воздух–препарат 4 : 1).

Лечение пациентам назначали по следующей схеме: компенсация СД (перевод на дробную инсулинотерапию), метаболическая терапия, антибактериальная, антикоагулянтная и ангиотропная терапия, физические методы лечения, терапия, направленная на лечение остеопороза.

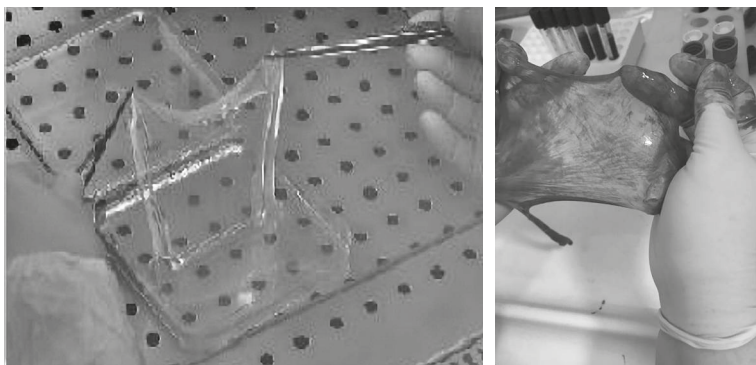
При поступлении выполняли хирургическую обработку ран с иссечением некрозов и ликвидацией гнойных затеков. С целью деcontаминации ран применялись специфические бактериофаги (после идентификации микрофлоры).

После стабилизации показателей регионарной гемодинамики и до появления условий к выполнению пластического закрытия дефектов ежедневно проводили перевязки с использованием гидрогелевых повязок. Одновременно проводили трансплантацию 5 000 000 мезенхимальных стволовых клеток (МСК) путем инъекций в мышечную ткань по периферии раны (рисунок 1).



**Рисунок 1. Больная С. Трансплантация МСК в мышечную ткань голени**

При появлении грануляций в дне раны и признаков краевой эпителизации выполняли закрытие раневой поверхности фибробластным матриксом с целью предотвращения вторичного инфицирования, стимуляции роста соединительной (грануляций) ткани в ране и создания условий для заживления ее путем раневой контракции (рисунок 2). Мембраны выращены в лаборатории Института клеточной биореабилитации МОЗ Украины (г. Харьков).



**Рисунок 2. Фибробластный матрикс**

Мембрана для закрытия состоит из двух основных частей: эпителия и мезодермы, разделенных базальной мембраной. В свою очередь мезодерма состоит из фибробластов и ретикулярных слоев, содержащих мезенхимальные стволовые клетки и суммирует потенциал дифференцировки эпителиальных клеток человека (ЭКЧ) и МСК в три зародышевых слоя – эктодерму, мезодерму и энтодерму. Мезенхимальные стволовые клетки выделяли из периферической крови методом магнитной сепарации в используемой автоматической системе AutoMACS, высевая 50 000 мононуклеарных клеток/см<sup>2</sup> в среде RPMI (1x) + GlutaMAX (Gibco Life Technologies, Канада) с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS) (Thermo Fisher Scientific) в CELL-disc™ – поверхности клеточных культур от 1000 см<sup>2</sup> до 1 м<sup>2</sup>. Культуры инкубировали при 37 °С, 20 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub> с использованием автоматической системы FibraStage (New Brunswick Scientific, США). Средние изменения выполнялись два раза в неделю. Через две недели после первоначального посева первичные колонии МСК отделяли с помощью 10-минутной инкубации при 37 °С с 0,05 % трипсин-ЭДТА (Gibco Life Technologies, Канада) и повторно высевали при 4200 клеток/см<sup>2</sup> в той же среде. Во всех экспериментах использовали МСК пассажа 6.

Характеристика и стандартизация МСК заключались в том, что клетки «прилипают» к пластику и имеют форму веретена, экспрес-

---

сию антигенных маркеров (CD73+, CD90+, CD105+ и CD45–CD34–, CD14–, CD79–) на их поверхности и потенциал дифференцировки.

Во всех наблюдениях пациентами было подписано соглашение об участии в исследовании.

## Результаты

На фоне лечения во всех наблюдениях отмечались позитивные изменения со стороны микробного пейзажа ран. При поступлении выделяли в основном грамположительные микроорганизмы со средней колонизацией ран  $7,42 \times 10^9$  колоний-функционирующих единиц (КФЕ). Наиболее часто идентифицировали стафилококки (у 4 пациентов) со средней колонизацией  $(8,46 \pm 0,82) \times 10^9$  КФЕ, на втором месте (у 3 пациентов) были стрептококки  $(7,24 \pm 0,84) \times 10^9$  КФЕ и у 1 пациента – грамтрицательная флора *E. coli* и синегнойная палочка  $(7,58 \pm 0,87) \times 10^9$  КФЕ в микробной ассоциации. На 5–8-е сутки местного лечения контаминация ран уменьшалась ниже критических величин ( $< 10^5$ ).

Транскутанное напряжение  $O_2$  до реконструктивной составило  $12,3 \pm 7,4$  мм рт. ст., на 3-и послеоперационные сутки –  $36,1 \pm 9,2$  мм рт. ст.

После закрытия раневой поверхности фибробластным матриксом пациенты отмечали исчезновение болевого синдрома.

Площадь поверхности ран у исследуемых пациентов до начала лечения составила в среднем  $91,3 \pm 30,42$  см<sup>2</sup>, к 5-м суткам –  $89,8 \pm 34,21$  и к 12-м суткам лечения –  $73,95 \pm 21,2$  см<sup>2</sup>. Скорость заживления ран к 5-м суткам лечения составила  $0,41 \pm 0,44$ , к 12-м суткам –  $1,73 \pm 0,63$ .

Во всех случаях удалось добиться спонтанной эпителизации ран в сроки от 35 до 111 суток, в среднем 61,9 дней (в зависимости от исходного состояния ран). Средние сроки пребывания в стационаре –  $22,6 \pm 2,4$  сут.

Приводим клинический пример.

Пациентка С., 1952 года рождения, обратилась в отделение хирургии магистральных сосудов ГУ «ИОНХ им. В. Т. Зайцева НАМН Украины» с жалобами на наличие обширной раны на правой голени (рисунок 3), боль в обеих нижних конечностях (больше в правой стопе и голени), которая усиливалась при физической нагрузке, ощущение похолодания в пальцах, ухудшение сна, связанное с неприятными ощущениями и болью в нижних конечностях. Длина безболевого ходьбы – около 35–50 м. Болеет около 3 лет, лечилась по месту жительства консервативно. Два года назад перенесла острый тромбоз глубоких вен. Рана на голени появилась за 9 месяцев до поступления в стационар. Сахарным диабетом 2-го типа бо-

---

леет более 20 лет. Традиционное консервативное и местное лечение неэффективно, площадь раны увеличивалась.



**Рисунок 3. Больная С. Рана правой голени при поступлении в отделение**

При объективном осмотре: кожа голеней бледная и прохладная на ощупь, имеется умеренный ее отек. Активные и пассивные движения сохранены, пальпаторно определяется пульсация на бедренных артериях, на правой подколенной, задней большеберцовой и передней большеберцовой артериях отсутствует.  $T_{spO_2}$  на стопе – 9,4 мм рт. ст.

05.10.2020 г. – выполнено ангиографическое исследование и реваскуляризация правой нижней конечности (рисунок 4).

После реваскуляризирующей операции  $T_{spO_2}$  составило 39,6 мм рт. ст.

08.10.2020 г. выполнена эрогенная склерооблитерация несостоятельных перфорантов под УЗ-навигацией «Этоксисклеролом» 3 %. Пену получали по методике Tessari (рисунок 5).

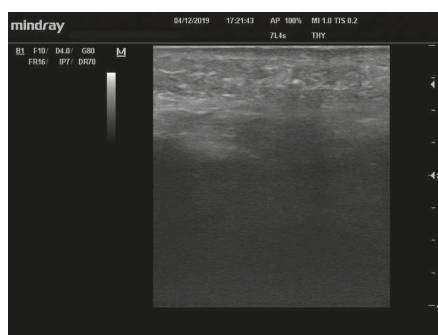
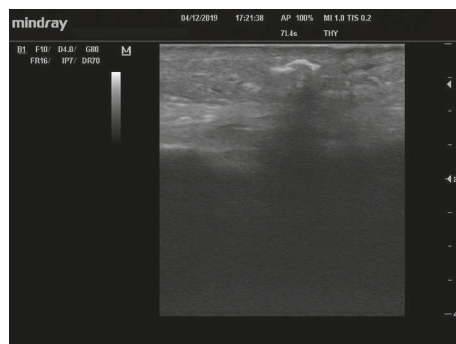
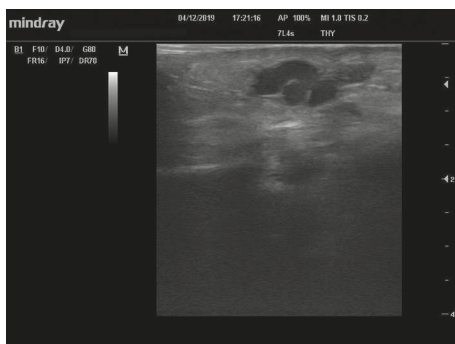
Учитывая размеры раны, принято решение об использовании в процессе лечения МСК. 10.10.2020 г. выполнена трансплантация 5 000 000 МСК (15 мл суспензии) в мышечную ткань голени по контуру раны.

На 12-е сутки лечения проведено закрытие раневой поверхности фибробластным матриксом конгруэнтно раневой поверхности. Пациентка выписана на амбулаторное лечение.





**Рисунок 4. Больная С. Стентирование поверхностной бедренной артерии и подколенной артерии, баллонная ангиопластика передней большеберцовой артерии справа**

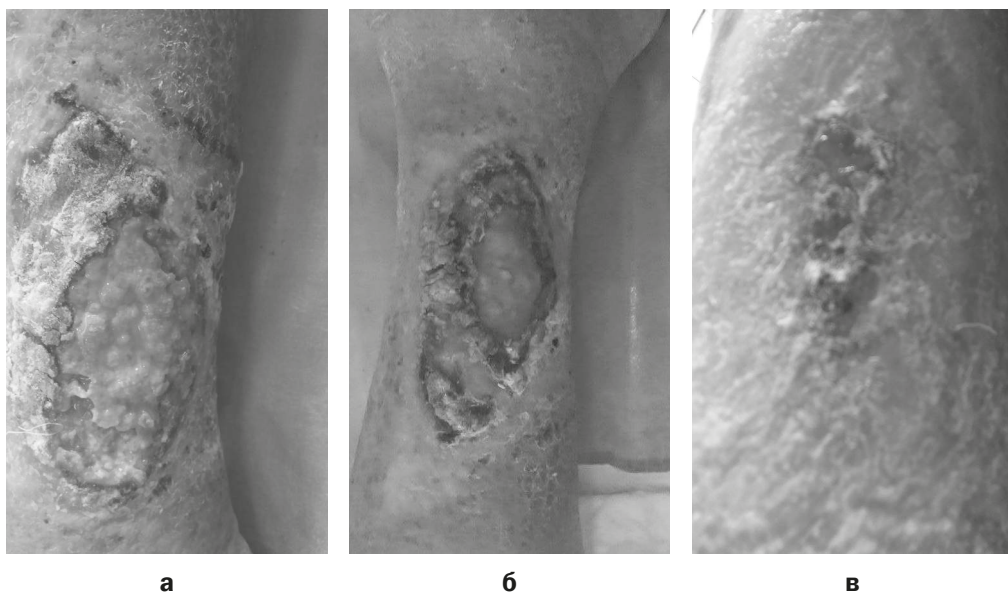


**Рисунок 5. Больная С. Склерооблитерация несостоятельных перфорантов под УЗ-навигацией**

Через 1 месяц после трансплантации МСК отмечена эпителизация раны на 1/3 площади (рисунок 6).

Через 2 месяца после трансплантации МСК пациентка, кроме улучшения местного статуса, отмечала улучшение общего состояния: повысилась трудоспособность и общая активность, ТсрО<sub>2</sub> составило 42,3 мм рт. ст. (см. рисунок 6).

Состояние больной через 4 месяца после клеточной трансплантации удовлетворительное: трудоспособна, ведет адекватную социальную и бытовую жизнь, отсутствуют боль и отеки конечности, рана зажила (см. рисунок 6).



**Рисунок 6. Больная С. Рана на этапах лечения: а – через 1 месяц после трансплантации МСК; б – через 2 месяца после трансплантации МСК; в – через 4 месяца после трансплантации МСК**

### **Обсуждение**

Мезенхимальные стволовые клетки являются мультипотентными стволовыми клетками, которые при воздействии различных индуктивных агентов могут дифференцироваться в адипоциты, фибробласты, стромальные клетки, астроциты, миоциты, хондроциты и остециты. Мембрана для закрытия ран представляет собой бессосудистую ткань, состоящую из трех слоев: монослоя эпителиальных клеток, бесклеточной базальной мембраны, компактного слоя, содержащего белки внеклеточного матрикса слоя МСК. Компактный слой и слой фибробластов представляют собой

---

ауто-мезодерму. Среди всех компонентов «мембраны», эпителиальные клетки человека и мезенхимальные стволовые клетки являются наиболее изученными из-за их противовоспалительных и иммуномодулирующих свойств и были в центре нашего внимания. Известно, что ЭКЧ и МСК подавляют пролиферацию, продукцию воспалительных цитокинов и дифференцировку Т-клеток. В то же время они стимулируют образование Treg-клеток. Растворимые факторы, секретируемые ЭКЧ, включая PGE2, TGF- $\beta$ , Fas-L, AFP, MIF, TRAIL и HLA-G, блокируют дифференцировку дендритных клеток и макрофагов M1 и способствуют дифференцировке моноцитов в противовоспалительный фенотип M2. Более того, известно, что ЭКЧ и МСК ответственны за модуляцию иммунной системы хозяина, в основном за счет подавления TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MCP-1 и IL-6 и повышения уровня противовоспалительных цитокинов [20, 21].

После трансплантации МСК и применения в качестве раневого покрытия фибробластного матрикса мы отмечали активацию образования и созревания уже к 14-м суткам полноценной грануляционной ткани, которая к 21-м суткам превращалась в фиброзно-рубцовую. Одновременно происходила регенерация эпидермиса: к 7–14-м суткам отмечается краевой рост незрелого эпителия, а к 21-м суткам формируется зрелый эпителий. Размеры ран сокращались за счет эпителизации и контракции рубцовой ткани. Кроме того, фибробластный матрикс соответствует основным требованиям, предъявляемым к перевязочным материалам, применяемым для лечения хронических ран различной этиологии: предотвращение вторичного инфицирования, механическая защита в сочетании с антифиброгенными, противовоспалительными и антимикробными свойствами. Результаты *in vitro* и *in vivo* показали повышенную миграцию клеток и эпителизацию, приводящую к ускоренному заживлению ран [22–24].

Применение разработанной технологии лечения способствует сокращению сроков лечения, снижает потребность в антибактериальной терапии и является альтернативой выполнению аутодермопластики.

### **Выводы и перспективы дальнейших разработок**

Клинически показано, что использование трансплантации мезенхимальных стволовых клеток пациентам с хроническими ранами, развившимися на фоне сахарного диабета, поражения магистральных артерий и вен нижних конечностей, существенно расширяет возможности успешного их лечения. Перспективным является детальное исследование предлагаемой методики на большом контингенте пациентов.

---

**Іванова Ю. В.**<sup>1-3</sup>, д-р мед. наук, професор кафедри хірургії № 1

**Граматюк С. М.**<sup>2</sup>, канд. мед. наук, директор

**Прасол В. О.**<sup>1-3</sup>, д-р мед. наук, професор, завідувач відділення гострих захворювань судин

**Криворучко І. А.**<sup>1</sup>, д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри хірургії № 2

**М'ясоєдов К. В.**<sup>1</sup>, канд. мед. наук, асистент кафедри хірургії № 1

**Зарудний О. О.**<sup>3</sup>, канд. мед. наук, завідувач відділення трансфузіології, екстракорпоральних технологій та біоматеріалів

**Гольцев К. А.**<sup>1</sup>, аспірант кафедри хірургії № 2

<sup>1</sup>Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

<sup>2</sup>Інститут клітинної біореабілітації, м. Харків, Україна

<sup>3</sup>ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В. Т. Зайцева НАМН України», м. Харків, Україна

## **Клітинні технології в лікуванні хронічних ран у хворих із цукровим діабетом**

**Резюме.** Цукровий діабет посідає третє місце в загальній структурі захворюваності і часто є предиктором або супутнім захворюванням при критичній ішемії нижніх кінцівок, що вимагає мультидисциплінарного підходу під час лікування трофічних виразок у цієї категорії хворих. У дослідженні проаналізовано результати лікування 8 пацієнтів із цукровим діабетом 2-го типу. Середній вік хворих становив  $67 \pm 3,6$  року, тривалість цукрового діабету –  $11 \pm 1,4$  року. Усі пацієнти мали IV ступінь хронічної ішемії кінцівки за Fontaine, при цьому у двох випадках діагностовано поєднання артеріальної та венозної патології. Після хірургічної обробки гнійного вогнища і компенсації регіонарної гемодинаміки хворим виконували перев'язку рани з трансплантацією мезенхімальних стовбурових клітин і застосуванням фібробластного матриксу. Розроблена методика дала змогу прискорити темпи загоєння рани і зменшити больовий синдром у післяопераційному періоді, а також знизити необхідність в антибактеріальній терапії. Швидкість загоєння ран на 5-у добу лікування становила  $0,41 \pm 0,44$ , на 12-у добу –  $1,73 \pm 0,63$ . Середні терміни перебування в стаціонарі –  $22,6 \pm 2,4$  доби.

**Ключові слова:** цукровий діабет, хронічні рани, мезенхімальні стовбурові клітини, фібробластний матрикс.

## **Cell Technologies in the Treatment of Chronic Wounds in Patients with Diabetes Mellitus**

**Yu. V. Ivanova**<sup>1-3</sup>, **S. M. Gramatiuk**<sup>2</sup>, **V. O. Prasol**<sup>1-3</sup>, **I. A. Kryvoruchko**<sup>1</sup>, **K. V. Miasoiedov**<sup>1</sup>, **O. O. Zarudnyi**<sup>3</sup>, **K. A. Holtsev**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Cellular Biorehabilitation, Kharkiv, Ukraine

<sup>3</sup>Zaitsev Institute of General and Emergency Surgery of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

---

## Abstract

**Materials and methods.** The results of treatment of 8 patients with chronic wounds and diabetes mellitus (DM) type 2 and stage IV chronic ischemia of the lower extremities by Fontaine were analyzed, in 2 cases there was a combination of venous and arterial insufficiency.

Revascularization of the lower extremities was performed through open (2), endovascular (4) and hybrid surgery (2). In case of venous insufficiency, sclerotherapy of perforator veins was performed.

After surgical treatment of the purulent focus, specific bacteriophages were used (after microflora identification). Hydrogel dressings were applied daily, alongside with transplantation of 5,000,000 mesenchymal stem cells (MSC) (CD73+, CD90+, CD105+ and CD45-, CD34-, CD14-, CD79-) by injection into muscle tissue around the wound, then the wound surface was closed with hMSC-fibroblast matrix.

**Results.** After the closure of the wound surface with fibroblast matrix, the patients noted the disappearance of the pain syndrome. The surface area of the wounds averaged  $91.3 \pm 30.42 \text{ cm}^2$  before the start of treatment,  $89.8 \pm 34.21 \text{ cm}^2$  on day 5 and  $73.95 \pm 21.2 \text{ cm}^2$  on day 12. Spontaneous epithelialization was achieved in the period from 35 to 141 days (depending on the initial state of the wounds). The average hospital stay was  $22.6 \pm 2.4$  days.

**Discussion.** It is known that human epithelial cells (hECs) and human mesenchymal stem cells (hMSCs) suppress proliferation, production of inflammatory cytokines and differentiation of T cells. At the same time, they stimulate the formation of regulatory T cells (Tregs). Soluble factors secreted by hECs, including PGE2, TGF- $\beta$ , Fas-L, AFP, MIF, TRAIL and HLA-G, block differentiation of dendritic cells and M1 macrophages and promote differentiation of monocytes into the anti-inflammatory M2 phenotype. Moreover, hECs and hMSCs are known to be responsible for modulating the host immune system, mainly by suppressing TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MCP-1 and IL-6 and increasing the level of anti-inflammatory cytokines.

*In vitro* and *in vivo* results show increased cell migration and epithelialization leading to accelerated wound healing.

**Keywords:** diabetes mellitus, chronic wounds, mesenchymal stem cells, fibroblast matrix.

---

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

### REFERENCES

1. Shapoval SD, Riazanov DYu, Savon IL, Berezhnytskyi YaS. Khirurhichna klasyfikatsiia uskladnenooho syndromu diabetichnoi stopy [Surgical Classification of Complicated Diabetic Foot Syndrome]. Proceedings of the XII annual scientific-practical conference with international participation "Rany i vyrazky, ranova infektsiia, stopa diabetyka. Plastyka ta elektrozvriuvannia zhyvykh tkanyh"; 2012 Nov 29-30; Kyiv, Ukraine. (Klin Khir. 2012;(11):38.). Ukrainian.
2. Shapoval SD, Savon IL, Vasylyvska LA, Maksymova OO, Slobodchenko LYu. [The role of a gram-positive microflora and its resistance in purulent-necrotic complications in patients, suffering syndrome of diabetic foot]. Klin Khir. 2019 October;86(10):38-41. Ukrainian. <https://doi.org/10.26779/2522-1396.2019.10.38>
3. Shapoval SD, Savon IL, Tribushnoy OV, Slobodchenko LYu. Osoblyvosti antybakterialnoi terapii khvyrykh na uskladnenyi syndrom diabetichnoi stopy ta z proiavamy sepsysu [Features of Antibiotic Therapy

---

for Patients with Complicated Diabetic Foot Syndrome and Sepsis]. *Galician medical journal*. 2016; 23(3 Supl 3):94-97. Ukrainian.

4. Shapoval SD, Tribushnyi OV, Savon IL. [Lethality in patients with complicated diabetic foot syndrome and signs of sepsis in accordance to recommendations «Sepsis-3». *Klin Khir*. 2018;85(3):33-34. Ukrainian. [https://doi.org/10.26779/2522\\_1396.2018.03.33](https://doi.org/10.26779/2522_1396.2018.03.33)

5. Besedin AM. [Reparation effects of vacuum wound therapy in patients with diabetic foot syndrome]. *Medicni Perspektivi*. 2015;20(3):106-112. Ukrainian.

6. Herasymchuk PO, Deikalo IM, Vlasenko VH, Fira DB, Pavlyshyn AV. *Vykorystannia vakuum-terapii v likuvanni ran u khvorykh na syndrom diabetichnoi stopy* [Use of vacuum therapy in the treatment of wounds in patients with diabetic foot syndrome]. *International Journal of Endocrinology*. 2016;2(74):124-129. Ukrainian.

7. Boyko VV, Ivanova YV, Mushenko YV, Korobov AM. *Kompleksnoe lechenie oslozhnennoy khirurgicheskoy infektsii, vyzvannoy multirezistentnoy mikrobnoy flory, u bolnykh s sindromom diabeticheskoy stopy* [Combined therapy of complicated surgical infections caused by multi-drug resistant microflora in patients with diabetic foot]. *Photobiology and photomedicine*. 2016;12(1-2):51-59. Russian.

8. Loosemore TM, Chalmers TC, Dormandy JA. A meta-analysis of randomized placebo control trials in Fontaine stages III and IV peripheral occlusive arterial disease. *Int Angiol*. 1994 Jun;13(2):133-142.

9. Mitish VA, Pakhalova IuS, Eroshkin IA, Galstian GR, Blatun LA. [Pyo-necrotic injuries in case of the neuro-ischemic form of diabetic foot syndrome]. *Khirurgiia (Mosk)*. 2014;(1):48-53. Russian.

10. Besedin AM, Karpenko LI, Maluk YY, Pundyk GN, Sotnikov SV. *Zastosuvannia optymizovanoi VAC-terapii u khvorykh iz hniino-nekrotychnymy uskladnenniamy syndromu diabetichnoi stopy* [Using optimized VAC-wound therapy in patients with purulent necrotic complications of diabetic foot syndrome]. *Klin Khir*. 2015;(11.2):65-69. Ukrainian.

11. Horobeiko MB, Krushynska ZH. [Systematic review of the effectiveness of topical treatment for ulcers in diabetic foot syndrome from the perspective of evidence-based medicine]. *International Journal of Endocrinology*. 2015;3(67):140-147. Ukrainian.

12. Zaremba VS, Fedchyshyn NR, Bokhonko RL, Herych HI. [Some aspects to diagnosis and treatment of diabetic foot syndrome]. *Shpytalna khirurgiia*. 2019; 4:63-66. Ukrainian. <https://doi.org/10.11603/2414-4533.2019.4.10712>

13. Galstyan GR, Sergeeva SV, Ignat'eva VI, Aksent'eva MV, Dedov II. [Clinical and economical grounds of budgetary quotation for patients with diabetic foot syndrome]. *Diabetes mellitus*. 2013;16(3):71-83. Russian. <https://doi.org/10.14341/2072-0351-820>

14. Kalachev EV, Butirskiy AG, Vlasov NV. *Osobennosti khirurgicheskoy infektsii pri gnoyno-nekroticheskikh oslozhneniyakh sindroma diabeticheskoy stopy* [The features of surgical infection with septic and necrosis complications of diabetic foot syndrome]. *Suchasni medychni tekhnolohii*. 2013;(3(19)):68-70. Russian.

15. Chaika OO, Buka GY, Vodianiuk RV, Glazunov VK, Nekrasov SYu, Kononenko DA, Chaika OO. *Khirurgicheskaya taktika pri lechenii bolnykh s gnoyno-vospalitelnyimi oslozhnenniyami pri sindrome diabeticheskoy stopy* [A surgery tactic of patients treatment with festering-inflammatory complications of syndrome of diabetic foot]. *Ukrainskyi zhurnal ekstremalnoi medytsyny imeni H.O.Mozhaieva*. 2011;12(3):103-105. Russian.

16. Shor NA. [Surgical policy in diabetic angiopathies of lower limbs with pyonecrotic lesions]. *Khirurgiia (Mosk)*. 2001;(6):29-33. Russian.

17. Balabolkin MI, Klebanova EM, Kreminskaya VM. *Patogenez i mekhanizmy razvitiya angiopatii pri sakharnom diabete* [Pathogenesis and angiopathies development mechanisms in diabetes mellitus]. *Kardiologiya*. 2000;40(10):74-87. Russian.

- 
18. Gorobeiko MB. [Silent ischemia of lower extremities in patients with diabetic peripheral polyneuropathy without pathosis of large arteries]. *Clinical Endocrinology Endocrine Surgery*. 2016;(3 (55)):60-64. Ukrainian.
  19. Gorobeiko MB. [Diabetic foot syndrome: farfetched or real threat?]. *Clinical Endocrinology Endocrine Surgery*. 2017;(1(57)):81-89. Ukrainian.
  20. Paggiaro AO, Menezes AG, Ferrassi AD, De Carvalho VF, Gemperli R. Biological effects of amniotic membrane on diabetic foot wounds: a systematic review. *J Wound Care*. 2018 Feb 1;27(Sup2):S19-S25. <https://doi.org/10.12968/jowc.2018.27.Sup2.S19>
  21. Oesman I, Dhamar Hutami W. Gamma-treated placental amniotic membrane allograft as the adjuvant treatment of unresponsive diabetic ulcer of the foot. *Int J Surg Case Rep*. 2020;66:313-318. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2019.12.033>
  22. Dhall S, Hoffman T, Sathyamoorthy M, Lerch A, Jacob V, Moorman M, Kuang JQ, Danilkovitch A. A Viable Lyopreserved Amniotic Membrane Modulates Diabetic Wound Microenvironment and Accelerates Wound Closure. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2019 Aug 1;8(8):355-367. <https://doi.org/10.1089/wound.2018.0931>
  23. Sun Y, Shi H, Yin S, Ji C, Zhang X, Zhang B, Wu P, Shi Y, Mao F, Yan Y, Xu W, Qian H. Human Mesenchymal Stem Cell Derived Exosomes Alleviate Type 2 Diabetes Mellitus by Reversing Peripheral Insulin Resistance and Relieving  $\beta$ -Cell Destruction. *ACS Nano*. 2018 Aug 28;12(8):7613-7628. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b07643>
  24. Yan KS, Gevaert O, Zheng GXY, Anchang B, Probert CS, Larkin KA, et al. Intestinal Enteroendocrine Lineage Cells Possess Homeostatic and Injury-Inducible Stem Cell Activity. *Cell Stem Cell*. 2017 Jul 6;21(1):78-90.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.06.014>

Стаття надійшла в редакцію 04.06.2021 р.