



ВЛИЯНИЕ ФОТОТЕРАПИИ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРА МАКРОФАГОВ MAC387 ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск,
Республика Беларусь

Цель. Изучить экспрессию маркера воспалительного ответа Anti-Macrophage antibody MAC387 в зоне раневого процесса у пациентов с синдромом диабетической стопы при воздействии местной и комбинированной фототерапии.

Материал и методы. Проанализирована интенсивность экспрессии маркера макрофагов MAC387 в серийных микропрепаратах биопсийного материала из раневых дефектов 157 пациентов с гнойно-некротическими поражениями стоп на фоне сахарного диабета 2-го типа в хирургическом отделении УЗ «Витебская городская клиническая больница скорой медицинской помощи». С использованием рандомизации сформировано 3 группы: 1-я – контрольная (57 человек); 2-я – с дополнительным применением в лечении фототерапии местно на раневую поверхность (50 человек); 3-я – с дополнительным применением в лечении комбинированной фототерапии местно и внутривенно (50 человек). Эффект воздействия фототерапии оценивался на 1-е, 3-5-е, 7-е, 14-е сутки от начала лечения по иммуногистохимическому окрашиванию биопсийного материала с использованием моноклональных антител к макрофагам Anti-Macrophage antibody MAC387.

Результаты. Раневой процесс при синдроме диабетической стопы сопровождается увеличением интенсивности экспрессии Anti-Macrophage antibody MAC387, что может служить маркером длительности его течения. Применение местной фототерапии приводит к повышению уровня интенсивности экспрессии маркера MAC387 макрофагов, что свидетельствует о позитивном влиянии синего и красного света на течение воспалительного процесса. Комбинированная фототерапия способствует выраженному нарастанию экспрессии маркера макрофагов к 7-м суткам и снижению к 14-м суткам лечебных мероприятий, что указывает на быстрое наступление пролиферативной фазы раневого процесса.

Заключение. При синдроме диабетической стопы в области раневого дефекта изменяется интенсивность экспрессии маркера MAC387 макрофагов, что может служить критерием для оценки длительности процесса заживления раны. Поведение мероприятий местной и комбинированной фототерапии позволяет нормализовать течение раневого процесса и ускорить заживление трофических язв нижних конечностей у пациентов с синдромом диабетической стопы.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, фототерапия, MAC387-позитивные макрофаги, раневой процесс, репарация

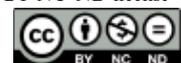
Objective. To study the expression of the inflammatory response marker anti-macrophage antibody MAC387 in the wound zone in patients with diabetic foot syndrome in case of local and combined phototherapy.

Methods. The expression intensity of macrophages marker MAC387 in the serial microscopic biopsy specimens of the wound defect was analyzed in 158 with purulent-necrotic lesions of the feet against the background of diabetes mellitus type 2 at the surgical department of Vitebsk City Emergency Clinical Hospital. Using the randomization method, 3 groups were formed: 1 – control (57 people); 2 – with additional use in the treatment of phototherapy locally over the wound surface (51 people); 3 – with additional use in the treatment of combined phototherapy locally and intravenously (52 people). The effect of phototherapy was assessed by immunohistochemical staining of the biopsy material using monoclonal antibodies to macrophages anti-macrophage antibody MAC387 on 1, 3-5, 7, 14 days from the beginning of treatment.

Results. The wound process in diabetic foot syndrome is accompanied by an increase in the expression intensity of anti-macrophage antibody MAC387, which can serve as a marker of the duration of its course. The use of a local phototherapy is accompanied with an increased level of the macrophages marker MAC387 expression intensity, which demonstrates the positive effect of blue and red light on the inflammatory process course. Combined phototherapy promotes a pronounced increase in the macrophage marker expression by the 7th day and a decrease by the 14th day of therapeutic measures, which indicates a faster onset of the wound process proliferative phase.

Conclusions. In diabetic foot syndrome, the expression intensity of macrophage MAC387 marker changes in the area of the wound defect, which can serve as a criterion for assessing the duration of the wound healing process. The use of local and combined phototherapy allows normalizing the course of the wound process and accelerating the healing of the lower limbs trophic ulcers in patients with diabetic foot syndrome.

Keywords: diabetic foot syndrome, phototherapy, MAC387-positive macrophages, wound process, reparation



Научная новизна статьи

Впервые изучена интенсивность экспрессии маркера макрофагов MAC387 в серийных микропрепаратах биопсийного материала из раневых дефектов пациентов с гнойно-некротическими поражениями стоп на фоне инсулинзависимого и инсулиннезависимого сахарного диабета. Установлено, что раневой процесс сопровождается увеличением интенсивности экспрессии Anti-Macrophage antibody MAC387. Комбинированная фототерапия способствует выраженному нарастанию экспрессии маркера макрофагов к 7 суткам и снижению к 14-м суткам лечения, что указывает на быстрее наступление пролиферативной фазы раневого процесса.

What this paper adds

The expression intensity of the macrophages MAC387 marker has been studied for the first time in serial microscopic biopsy specimens from the wound defects of patients with purulent-necrotic lesions of the foot on the background insulin dependent and insulin non-dependent diabetes mellitus. The wound healing process has been found out to be accompanied by the increase in the intensity of expression of anti-macrophage antibody MAC387. Combined phototherapy contributes to a marked increase in the expression of macrophage marker by the 7th day and decrease by the 14th day of treatment, indicating a more rapid onset of the proliferative phase of the wound process.

Введение

По заключению экспертов Всемирной Федерации диабета, в 2017 году насчитывалось около 425 млн. человек с сахарным диабетом, из них в Республике Беларусь сахарным диабетом 1-ого и 2-ого типов страдали около 287 тысяч пациентов. Ежегодно в стране регистрируется увеличение заболеваемости на 8-10%, что отражает мировую тенденцию неинфекционной диабетической пандемии [1, 2].

Нарушение углеводного обмена в 30-60% случаев приводит к поражению нижних конечностей с развитием синдрома диабетической стопы (ДС), одним из компонентов которого является длительно незаживающий дефект мягких тканей. При синдроме ДС в 10-15 раз чаще, чем при других сосудистых поражениях нижних конечностей, выполняется ампутация нижних конечностей на различных уровнях, лечение пациентов сопровождается большими затратами, что определяет социально-медицинскую значимость данного осложнения [3, 4].

Течение раневого процесса делится на три фазы: воспаление, пролиферация и эпителизация, ремоделирование. В области хронического раневого дефекта эта последовательность нарушается и могут одновременно присутствовать все три фазы. Кроме того, в области длительно незаживающей раны нарушаются межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия [5].

Одним из важнейших клеточных компонентов заживления раны являются макрофаги. В зависимости от функциональной активности они продуцируют различные биологически активные вещества, инициирующие иммунные реакции, отвечают за фагоцитоз и противомикробную защиту, а также оказывают влияние на пролиферативную активность других типов клеток [6].

На этапе воспаления макрофаги, привлеченные хемоаттрактантами, фрагментами иммуноглобулина G, продуктами разрушения эластина, коллагена, цитокинами (например, лейкотриеном B), высвобождают в ране

эпидермальный фактор роста (ЭФР), трансформирующий фактор роста-альфа (ТФР- α), основной фактор роста фибробластов (ОФРФ), что, в свою очередь, приводит к активации фибробластов, кератиноцитов и эндотелиальных клеток, необходимых для развития нормального репаративного процесса. Снижение уровня макрофагов на данном этапе грозит замедлением очищения раневого дефекта, недостаточным уровнем ангиогенеза, низкой пролиферацией фибробластов [7].

Во время пролиферации формируется грануляционная ткань, тканевые макрофаги которой участвуют в процессе неоангиогенеза посредством выделения различных субстанций роста сосудов, таких как фактор некроза опухоли α , ОФРФ. Ангиогенный росток, в свою очередь, внедряется в фибрин/фибронектиновый матрикс, превращаясь в микрососудистую сеть, которая заполняет грануляционную ткань [8, 9].

Также макрофаги участвуют в фазе ремоделирования. Внеклеточный матрикс постоянно перестраивается, для чего необходимы постоянный синтез и разрушение коллагена при участии матриксных металлопротеиназ, которые образуются, в том числе, и макрофагами [10].

Значительная роль макрофагов в процессах воспаления и регенерации определяет необходимость изучения способов стимуляции активности данных клеток для ускорения заживления хронических ран у пациентов с синдромом диабетической стопы. В связи с этим является актуальным поиск новых методов как местного, так и системного воздействия на регуляцию уровня макрофагов в области раневого дефекта.

Имеются данные об использовании источников лазерного излучения при лечении хронических ран в экспериментальных условиях, а также у пациентов с венозными трофическими язвами [11]. Отмечается положительное воздействие света синего спектра (0,440-0,485 мкм) на рану за счет улучшения микроциркуляции, нормализации регенерации тканей, улучшения нервной проводимости, повышения доставки

кислорода к тканям. Облучение светом красного спектра (0,625-0,740 мкм) оказывает симпатикотоническое воздействие, возбуждает нервную систему, повышает активность клеточного метаболизма, стимулирует работу иммунной системы [12]. В литературе отмечается положительное воздействие внутривенного лазерного излучения на трофику заживления ран у пациентов с сахарным диабетом, однако отсутствуют данные о возможности комбинированного воздействия на местном и системном уровнях.

Таким образом, включение фототерапии в комплексное лечение пациентов с осложнениями синдрома диабетической стопы может способствовать нормализации течения раневого процесса нижних конечностей.

Цель. Изучить экспрессию маркера воспалительного ответа Anti-Macrophage antibody MAC387 в зоне раневого процесса у пациентов с синдромом диабетической стопы при воздействии местной и комбинированной фототерапии.

Материал и методы

В исследование включено 157 пациентов (81 (51,6%) мужчина) и 76 (48,4%) женщин) с гнойно-некротическими поражениями стоп на фоне инсулинзависимого и инсулиннезависимого сахарного диабета, проходивших стационарное лечение в хирургическом отделении УЗ «Витебская городская клиническая больница скорой медицинской помощи». Пациенты были разделены на следующие группы:

— 1-я группа, контрольная (29 (18,5%) пациентов с СД инсулинзависимого типа; 28 (17,8%) пациентов с СД инсулиннезависимого типа, лечение которых проводилось согласно протоколам Министерства здравоохранения Республики Беларусь);

— 2-я группа (20 пациентов (12,7%) с СД инсулинзависимого типа; 30 пациентов (19,1%) с СД инсулиннезависимого типа), в лечении которых дополнительно в течение 14 дней применялась фототерапия раневого дефекта в следующем режиме: ежедневно во время перевязки воздействие на рану синим светом $0,47 \pm 0,03$ мВт в течение 10 минут, затем красным светом $0,67 \pm 0,02$ мВт в течение 10 минут);

— 3-я группа (14 пациентов (8,9%) с СД инсулинзависимого типа; 36 (22,9%) пациентов с СД инсулиннезависимого типа, в лечении которых дополнительно применялась комбинированная фототерапия раневого дефекта с внутривенным облучением крови в следующем режиме: ежедневно во время перевязки воздей-

ствии на рану синим светом $0,47 \pm 0,03$ мВт, 2 мВт в течение 10 минут, затем красным светом $0,67 \pm 0,02$ мВт, 2 мВт в течение 10 минут длительностью 14 дней, а также лазерное внутривенное облучение крови (ЛВОК) в течение 15 минут $0,67 \pm 0,03$ мВт, красная область спектра, 2 мВт в количестве 7 процедур через день.

Группы статистически были сопоставимы по полу, возрасту и длительности заболевания.

Фототерапия проводилась с использованием многофункционального лазерного терапевтического аппарата «Родник 1» (НПК «Люзар» (Республика Беларусь)).

Забор биопсийного материала для иммуногистохимической оценки интенсивности экспрессии маркера макрофагов Anti-Macrophage antibody MAC387 производился на 1-е, 3-е, 5-7-е, 14-е сутки от начала лечения из центральной части раневого дефекта после проведения предварительной хирургической обработки с иссечением некротизированных тканей и санированием очага инфекции. Полученный материал фиксировали в 10%-ом растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 часов, а затем заливали в парафин по стандартной методике. Депарафинирование и иммуногистохимическое окрашивание серийных срезов проводили по стандартному протоколу в автоматическом режиме в иммуногистостейнере Leica BOND-MAX с использованием моноклональных антител к макрофагам Anti-Macrophage antibody MAC387 (ab22506 «Abcam», UK) в разведении 1:100 при времени экспозиции 60 мин.

Морфометрическую оценку экспрессии маркера осуществляли при 400-кратном увеличении в 10 случайно выбранных полях зрения с использованием бинокулярного микроскопа Leica DM 2000 с цифровой камерой и лицензионной программой Leica Application Suite, version 3.6.0. и с использованием программы ImageJ 1.45s. Количественные данные представляли в виде интенсивности экспрессии (ИЭ) рассчитанной по формуле:

$$ИЭ = \frac{\text{значение экспрессии (в пикселях)}}{\text{площадь экспрессии}} \times 100,$$

где ИЭ — интенсивность экспрессии маркера в биоптатах из раневого дефекта (%).

Статистика

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью стандартного пакета статистических программ «STATISTICA 10.0» и «MS Excel». Величины анализируемых показателей в группах представляли в виде медианы (Me), интерквартильного интервала [25%; 75%].

Достоверность межгрупповых значений средних величин оценивали по критерию Манна-Уитни (U) и Уилкоксона (W). Различия принимались за достоверные при $p < 0,05$.

Результаты

Экспрессия маркера макрофагов MAC387 в зоне раневого дефекта при синдроме диабетической стопы проявлялась в виде коричневого окрашивания различной интенсивности (от светло- до темно-коричневого) у пациентов всех исследуемых групп. В группе 1 у пациентов с инсулинзависимым СД на 1-е сутки медиана интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 составила 38,30%, с инсулиннезависимым СД – 38,92%; в группе 2 – 37,42% и 38,41% соответственно; в группе 3 – 38,46% и 40,18% соответственно (рис. 1, таблица 1). Данный показатель указывал на активность макрофагов в зоне раневого дефекта, длительность течения фазы воспаления мягких тканей нижних конечностей при сахарном диабете.

На 3-5-е сутки лечения в группе 1 при инсулиннезависимом типе СД медиана экспрессии маркера макрофагов MAC387 нарастала и составила 42,41%, что достоверно значимо отличалось от 1-х суток наблюдения ($p < 0,001$). У пациентов группы 1 с СД инсулинзависимого типа медиана экспрессии маркера макрофагов MAC387 снижалась в сравнении с 1-ми сутками и составила 36,40% ($p = 0,443$). Применение

фототерапии раневого дефекта на местном уровне (2-я группа) у пациентов с инсулинзависимым и инсулиннезависимым типами СД продемонстрировало нарастание интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 до 40,69% и 40,66% соответственно, что достоверно отличалось от 1-х суток наблюдения ($p < 0,001$, $p < 0,001$).

В группе 3 медиана интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 у пациентов с инсулинзависимым и инсулиннезависимым СД составила 43,46% и 45,29% соответственно, что достоверно значимо отличалось от 1-х суток наблюдения ($p < 0,001$, $p < 0,001$), контрольной группы ($p < 0,001$, $p < 0,001$) и группы 2 ($p < 0,001$, $p < 0,001$) (рис. 2).

На 7-е сутки лечения в группе 1 медиана экспрессии маркера макрофагов MAC387 у пациентов с инсулинзависимым СД составила 32,52%, что было значительно ниже значений 1-х и 3-5-х суток наблюдения ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно). У пациентов с СД инсулиннезависимого типа (группа 1) медиана интенсивности экспрессии составила 37,39%, что было достоверно значимо ниже значений 1-х и 3-5-х суток лечения ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно). Применение фототерапии раневого дефекта местно (2-я группа) продемонстрировало нарастание интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 в сравнении с 1-ми и 3-5-ми сутками наблюдения у пациентов с инсулинзависимым и

Рис. 1. Экспрессия маркера MAC387 в макрофагах в ранах пациентов с синдромом диабетической стопы на 1-е сутки лечения. А – 1-я группа, Б – 2-я группа, В – 3-я группа. Окраска – Anti-Macrophage antibody. Ув. $\times 400$.

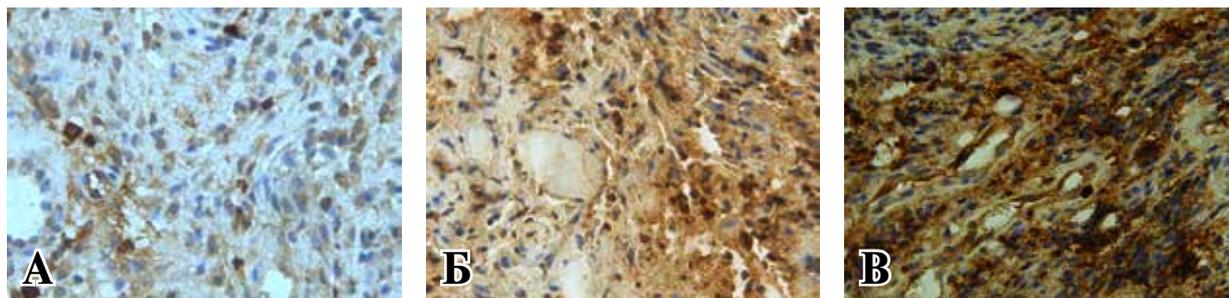
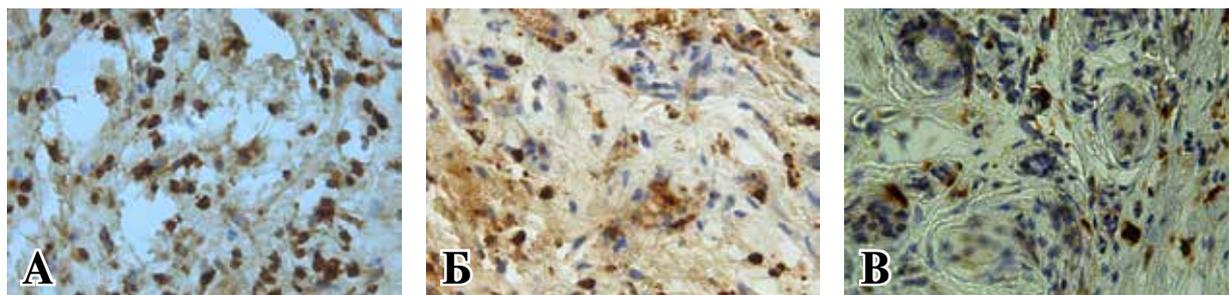


Рис. 2. Экспрессия маркера макрофагов MAC387 в макрофагах в ранах пациентов с синдромом диабетической стопы на 3-5-е сутки лечения. А – 1-я группа, Б – 2-я группа, В – 3-я группа. Окраска – Anti-Macrophage antibody. Ув. $\times 400$.



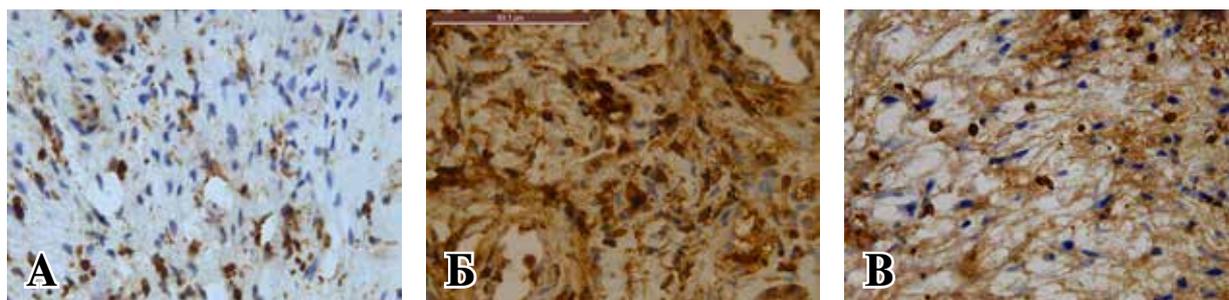


Рис. 3. Экспрессия маркера макрофагов MAC387 в ранах пациентов с синдромом диабетической стопы на 7-е сутки лечения. А – 1-я группа, Б – 2-я группа, В – 3-я группа. Окраска – Anti-Macrophage antibody. Ув. $\times 400$.

инсулиннезависимым СД до 45,20% ($p < 0,001$) и 47,49% ($p < 0,001$) соответственно. В группе 3 у пациентов с инсулинзависимым и инсулиннезависимым СД медиана экспрессии маркера макрофагов MAC387 нарастала до 48,06% ($p < 0,001$) и 48,43% ($p < 0,001$) соответственно, что достоверно значимо отличалось от значений 3-5-х суток лечения контрольной группы. При этом интенсивность экспрессии маркера макрофагов MAC387 у пациентов с инсулиннезависимым типом сахарного диабета на 7-е сутки лечения достоверно значимо не отличалась от уровня у пациентов, получавших комбинированную фототерапию (рис. 3, 4).

На 14-е сутки лечения медиана интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 в группе 1 у пациентов с инсулинзависимым и инсулиннезависимым СД значительно снижалась и составила 24,48% и 26,98% соответственно, что достоверно значимо отличалось от предыдущего срока наблюдения ($p < 0,001$, $p < 0,001$). В группе 2 интенсивность экспрессии продемонстрировала снижение медианы отно-

сительно предыдущего срока исследования в 3,04 раза (инсулинзависимый СД) и 3,25 раза (инсулиннезависимый СД) и составила 14,82% и 14,57% соответственно. Данные показатели экспрессии достоверно значимо отличались от контрольной группы аналогичного срока наблюдения ($p < 0,001$, $p < 0,001$) и от 1-х суток начала лечения ($p < 0,001$, $p < 0,001$) аналогичной группы. Динамика изменений интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 в группе 3 была сходной с предыдущей группой, однако более выражена. Медиана экспрессии в группе пациентов с инсулинзависимым СД снижалась в 4,5 раза в сравнении с 7-ми сутками и составила 10,68% ($p < 0,001$). В группе пациентов с инсулиннезависимым СД медиана экспрессии снижалась в 5,61 раза в сравнении с 7-ми сутками и составила 8,62% ($p < 0,001$). В сравнении с 1-ми сутками медиана экспрессии достоверно значимо снижалась в 3,6 раза у пациентов с инсулинзависимым СД и в 4,66 раза у пациентов с инсулиннезависимым СД ($p < 0,001$, $p < 0,001$) (рис. 5).

Рис. 4. Динамика интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 в ранах пациентов с синдромом диабетической стопы.

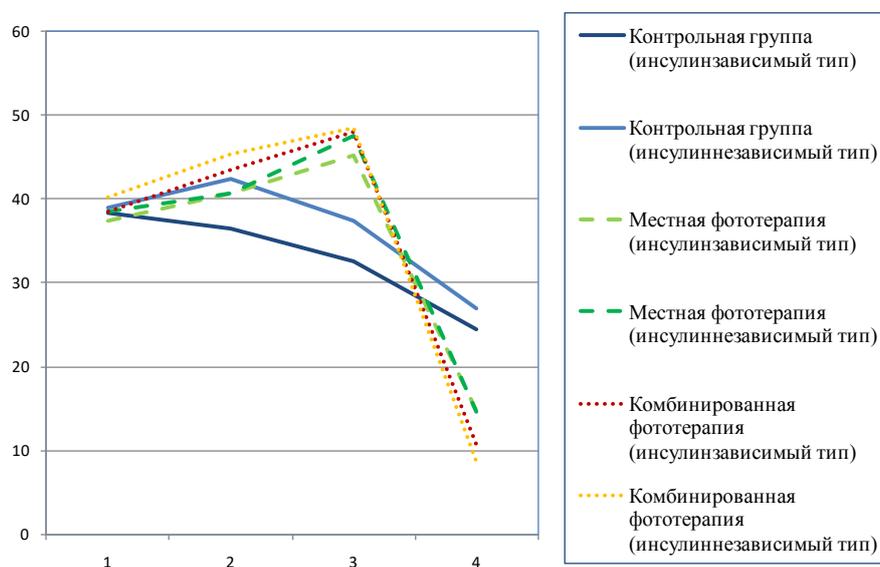


Таблица
Динамика изменения интенсивности экспрессии МАС387 позитивных макрофагов в лечении пациентов с синдромом диабетической стопы

Группа	Показатель	Контрольная группа (без применения фототерапии)		Местное лечение (применение фототерапии местно)		Комбинированное лечение (применение фототерапии местно+внутривенно)	
		Инсулин- зависимый тип (n=29)	Инсулин- независимый тип (n=28)	Инсулин- зависимый тип (n=20)	Инсулин- независимый тип (n=31)	Инсулин- зависимый тип (n=15)	Инсулин- независимый тип (n=37)
1	2	3	4	5	6	7	8
1-е сутки	Медиана, %	38,30	38,92	37,42	38,41	38,46	40,18
	Размах (Min-Max), %	20,02-56,82	28,18-53,84	p2=0,945 19,62-59,25	p2=0,968 21,88-59,64	p2=0,687 21,01-47,72	p2<0,009 30,48-52,91
	95% ДИ для медианы, %	37,07-39,52	38,26-39,57	36,11-38,78	37,43-39,38	37,76-39,16	39,65-40,72
3-5-е сутки	25-75 процентиль, %	30,23-44,53	34,76-42,82	30,21-45,23	32,59-44,91	35,75-41,55	36,95-42,75
	Медиана, %	36,40 p1=0,443	42,41 p1<0,001	40,69 p1<0,001 p2<0,001	40,66 p1<0,001 p2=0,591	43,46 p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001	45,29 p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001
	Размах (Min-Max), %	21,02-59,80	20,22-59,84	33,39-51,77	30,08-61,46	33,38-60,29	35,96-55,80
7-е сутки	95% ДИ для медианы, %	35,13-37,67	40,86-43,96	40,17-41,21	39,67-41,66	42,42-44,49	44,78-45,80
	25-75 процентиль, %	28,68-45,39	31,38-52,31	38,30-43,72	34,79-48,97	40,31-50,16	42,31-49,13
	Медиана, %	32,52 p1<0,001	37,39 p1<0,001	45,20 p1<0,001 p2<0,001	47,49 p1<0,001 p2<0,001	48,06 p1<0,001 p2<0,001 p3=0,160	48,43 p1<0,001 p2<0,001 p3=0,160
14-е сутки	Размах (Min-Max), %	20,11-58,38	26,57-49,98	40,28-53,43	33,97-64,80	43,48-53,25	33,18-67,18
	95% ДИ для медианы, %	31,40-33,65	36,79-38,00	44,79-45,61	46,69-48,28	47,72-48,40	47,53-49,34
	25-75 процентиль, %	26,62-39,23	33,89-41,51	43,71-47,85	42,71-53,20	46,53-49,34	43,25-53,94
	Медиана, %	24,48 p1<0,001	26,98 p1<0,001	14,82 p1<0,001 p2<0,001	14,57 p1<0,001 p2<0,001	10,68 p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001	8,62 p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001
	Размах (Min-Max), %	14,01-39,76	14,93-45,04	11,43-18,53	11,23-19,92	6,23-16,76	4,71-11,92
	95% ДИ для медианы, %	23,91-25,06	26,30-27,66	14,60-15,03	14,38-14,76	10,28-10,94	8,46-8,78
	25-75 процентиль, %	21,16-28,05	23,11-31,15	13,64-16,04	13,68-15,79	9,35-12,55	7,49-9,52

Примечание: p1 – по сравнению с предыдущим сроком лечения; p2 – в сравнении с аналогичным сроком лечения в контрольной группе; p3 – в сравнении с группой, где применялась фототерапия на местном уровне.

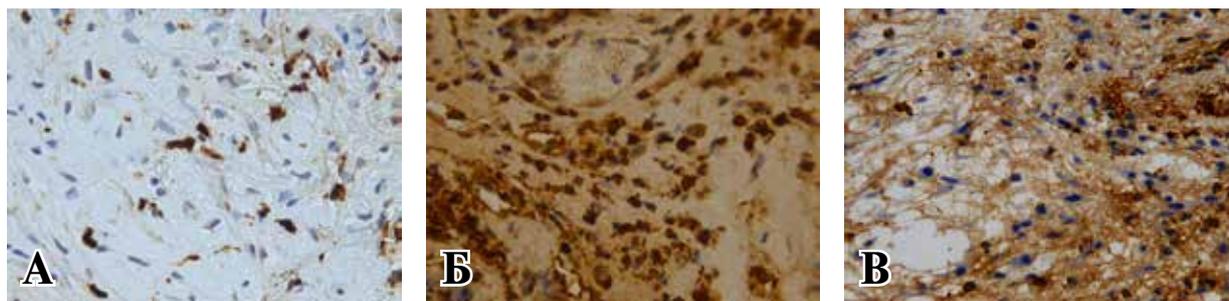


Рис. 5. Экспрессия маркера макрофагов MAC387 в ранах пациентов с синдромом диабетической стопы на 14-е сутки лечения. А – 1-я группа, Б – 2-я группа, В – 3-я группа. Окраска – Anti-Macrophage antibody. Ув. $\times 400$

Обсуждение

Проведенное исследование показало изменение интенсивности экспрессии маркера макрофагов MAC387 на протяжении течения раневого процесса у пациентов с синдромом диабетической стопы с использованием фототерапии в различных комбинациях.

Анализируя колебания экспрессии маркера макрофагов, можно заключить, что традиционное лечение уступает при сравнении с дополнительным проведением мероприятий фототерапии (рис. 4).

Это согласуется с данными других авторов, исследовавших влияние местной фототерапии на течение раневого процесса при лечении трофических язв венозного генеза [11].

На 1-е сутки лечения во всех группах пациентов морфологические изменения характеризовались выраженной фагоцитарной активностью и соответствовали фазе воспаления, которая отличалась по своей интенсивности и длительности течения. Клинически пациенты отмечали выраженный болевой синдром, наблюдались язвы нижних конечностей с гнойным отделяемым [12].

Наращение экспрессии макрофагов к 3-5-м суткам лечения у пациентов всех групп сопровождалось клинически выраженными признаками воспаления.

К 7-м суткам лечения наблюдалось максимальное нарастание экспрессии макрофагов в группе с комбинированной фототерапией (48,06% и 48,43% у пациентов с инсулинзависимым и инсулиннезависимым СД соответственно). Снижение к 14-м суткам экспрессии макрофагов отражало, надо полагать, более интенсивное течение воспалительного процесса и переход к дальнейшим фазам заживления [13]. В эти сроки в данной группе у пациентов клинически отмечалась положительная динамика течения раневого процесса, что позволило уменьшить сроки подготовки тканей к пластическому закрытию [11, 14]. Исходя

из полученных данных экспрессии маркера макрофагов, можно заключить, что проведение комбинированной терапии приводило к выраженной активации макрофагов, а это, в свою очередь, способствовало развитию ускоренной пролиферации и дифференцировке фибробластов, синтезу коллагена и других компонентов матрикса.

Во 2-й группе, где применялась местная фототерапия, также наблюдалось повышение экспрессии макрофагов во время проведения сеансов терапии, однако уровень экспрессии макрофагов нарастал медленнее и достигал своего максимального значения только к 14-м суткам лечения. Клинически в эти сроки у пациентов отмечалось уменьшение болевого синдрома и количества гнойного отделяемого из раны.

В контрольной группе, где проводилось традиционное лечение, направленность макрофагальной реакции соотносилась с таковой в группах с проведением фототерапии, но значительно уступала по своей интенсивности.

Таким образом, при синдроме диабетической стопы целесообразно сочетание местного облучения ран синим и красным спектрами света с внутривенным облучением крови красным спектром света, что оказывает положительное воздействие на заживление раневых дефектов и способно влиять на длительность и конечный результат лечения.

Выводы

1. При синдроме диабетической стопы в области раневого дефекта изменяется интенсивность экспрессии маркера MAC387 макрофагов, что может служить критерием для оценки длительности процесса заживления раны.

2. Применение местной фототерапии приводит к повышению уровня интенсивности экспрессии маркера MAC387 макрофагов, что

указывает на положительное влияние облучения светом синего и красного спектров на активность макрофагов в течении воспалительного процесса.

3. Сочетание местного фототерапевтического воздействия на рану путем ее облучения светом синего и красного спектров с внутривенным облучением светом красного спектра приводит к выраженному нарастанию экспрессии маркера макрофагов MAC387 к 7-м суткам и снижению к 14-м суткам, что указывает на более быстрое наступление пролиферативной фазы по сравнению с традиционным лечением.

Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований Витебского государственного медицинского университета.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Одобрение комитета по этике

Исследование одобрено этическим комитетом Витебского государственного медицинского университета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Салоко ОБ, Богдан ЕЛ, Шепелькевич АП, Шавелева МВ, Ярош ЕА. Распространенность хронических осложнений сахарного диабета в Республике Беларусь (по данным Республиканского регистра «Сахарный диабет»). *Лечебное Дело*. 2016;(5):31-34. http://lech-delo.by/wp-content/uploads/content_id_5_51_2016.jpg
2. IDF Diabetes atlas [Internet]. 8th ed. [cited 2017 Sep 7]. Available from: <http://diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html>
3. Бублик ЕВ, Галстян ГР. Эпидемиология и патогенетические факторы синдрома диабетической стопы у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, находящихся на диализе. *Сахар Диабет*. 2007;(3):10-17. <https://cyberleninka.ru/article/v/epidemiologiya-i-patogeneticheskie-factory-sindroma-diabeticheskoy-stopu-u-bolnyh-s-terminalnoy-stadiy-hronicheskoy-pochechnoy>
4. Tellechea A, Leal EC, Kafanas A, Auster ME, Kuchibhotla S, Ostrovsky Y, Tecilazich F, Baltzis D, Zheng Y, Carvalho E, Zabolotny JM, Weng Z, Petra A, Patel A, Panagiotidou S, Pradhan-Nabzdyk L, Theoharides TC, Veves A. Mast cells regulate wound healing in diabetes. *Diabetes*. 2016 Jul;65(7):2006-19. doi: 10.2337/db15-0340
5. Умеров ЭЭ. Особенности морфологической структуры кожи при ишемических трофических язвах с учетом макрофагальной активности воспалительного

инфильтрата. *Світ Медицини та Біології*. 2013;(4):89-91. <https://womab.com.ua/smb-2013-04-1/3938>

6. Варюшина ЕА, Москаленко ВВ, Лебедева ТП, Бубнов АН, Симбирцев АС. Использование интерлейкина-1 для местного лечения гнойно-некротических поражений нижних конечностей. *Мед Иммунология*. 2008;10(4-5):439-48. <http://www.spbraaci.ru/files/2008-4-5-439-448.pdf>

7. Винник ЮС, Салмина АБ, Дробушевская АИ, Теплякова ОВ, Пожиленкова ЕА, Котиков АР. Особенности патогенеза длительно незаживающих ран. *Новости Хирургии*. 2011;19(3):101-10. http://www.surgery.by/pdf/full_text/2011_3_16_ft.pdf

8. Maruyama K, Asai J, Ii M, Thorne T, Losordo DW, D'Amore PA. Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired diabetic wound healing. *Am J Pathol*. 2007 Apr;170(4):1178-91. doi: 10.2353/ajpath.2007.060018

9. Gibson DJ, Schultzf G. Chronic wound diagnostic for matrix metalloproteinase. *Wound Healing Southern Africa*. 2009;2:68-70. <http://www.woundhealing.co.za/index.php/WHSA/article/view/51>

10. Sharifian Z, Bayat M, Alidoust M, Farahani RM, Bayat M, Rezaie F, Bayat H. Histological and gene expression analysis of the effects of pulsed low-level laser therapy on wound healing of streptozotocin-induced diabetic rats. *Lasers Med Sci*. 2014 May;29(3):1227-35. doi: 10.1007/s10103-013-1500-5

11. de Loura Santana C, Silva D de F, Deana AM, Prates RA, Souza AP, Gomes MT, de Azevedo Sampaio BP, Shibuya JF, Bussadori SK, Mesquita-Ferrari RA, Fernandes KP, Franza CM. Tissue responses to postoperative laser therapy in diabetic rats submitted to excisional wounds. *PLoS One*. 2015 Apr 24;10(4):e0122042. doi: 10.1371/journal.pone.0122042

12. Li Y, Zhang J, Xu Y, Han Y, Jiang B, Huang L, Zhu H, Xu Y, Yang W, Qin C. Effects of 630 nm red and 460 nm blue light emitting diode irradiation on healing of the skin wound in Japanese big-ear white rabbit. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. 2017 Jun 20;39(3):301-306. doi: 10.3881/j.issn.1000-503X.2017.03.001

13. Houreld N, Abrahamse H. He-Ne laser irradiation stimulates proliferation and migration of diabetic wounded fibroblast cells. In: Waynant R, Tata DB. (eds). *Proceedings of Light-Activated Tissue Regeneration and Therapy Conference*. Springer, Boston, MA; 2008;12. p. 221-32. https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-0-387-71809-5_21

14. Zhang H, Liu S, Yang X, Chen N, Pang F, Chen Z, Wang T, Zhou J, Ren F, Xu X, Li T. LED Phototherapy with gelatin sponge promotes wound healing in mice. *Photochem Photobiol*. 2018 Jan;94(1):179-85. doi: 10.1111/php.12816

REFERENCES

1. Saloko OB, Bogdan EL, Shepel'kevich AP, Shchhaveleva MV, Yarosh EA. Rasprostranennost' khronicheskikh oslozhnenii sakharnogo diabeta v Respublike Belarus' (po dannym Respublikanskogo registra «Sakharnyi diabet»). *Lechebnoe Delo*. 2016;(5):31-34. http://lech-delo.by/wpcontent/uploads/content_id_5_51_2016.jpg (in Russ.)
2. IDF Diabetes atlas [Internet]. 8th ed. [cited 2017 Sep 7]. Available from: <http://diabetesatlas.org/resources/2017-atlas.html>

3. Bublik EV, Galstian GR. Epidemiologia i patogeneticheskie faktory sindroma diabeticheskoi stopy u bol'nykh s terminal'noi stadiie khronicheskoi pochechnoi nedostatochnosti, nakhodiashchikhsia na dialize. *Sakhar Diabet.* 2007;(3):10-17. <https://cyberleninka.ru/article/v/epidemiologiya-i-patogeneticheskie-faktory-sindroma-diabeticheskoy-stopy-u-bolnyh-s-terminalnoy-stadiie-hronicheskoy-pochechnoy> (in Russ.)
4. Tellechea A, Leal EC, Kafanas A, Auster ME, Kuchibhotla S, Ostrovsky Y, Tecilazich F, Baltzis D, Zheng Y, Carvalho E, Zabolotny JM, Weng Z, Petra A, Patel A, Panagiotidou S, Pradhan-Nabzdyk L, Theoharides TC, Veves A. Mast cells regulate wound healing in diabetes. *Diabetes.* 2016 Jul;65(7):2006-19. doi: 10.2337/db15-0340
5. Umerov EE. Osobennosti morfologicheskoi struktury kozhi pri ishemicheskikh troficheskikh iazvakh s uchedom makrofagal'noi aktivnosti vospalitel'nogo infil'trata. *Svit Meditsini ta Biologii.* 2013;(4):89-91. <https://womab.com.ua/smb-2013-04-1/3938> (in Russ.)
6. Varyushina EA, Moskalenko VV, Lebedeva TP, Bubnov AN, Simbirtsev AS. Interleukin-1p application for local treatment of purulent and necrotic lesions of lower extremities. *Med Immunologii.* 2008;10(4-5):439-48. <http://www.spbraaci.ru/files/2008-4-5-439-448.pdf> (in Russ.)
7. Vinnik IuS, Salmina AB, Drobusheskaia AI, Tepliakova OV, Pozhilenkova EA, Kotikov AR. Osobennosti patogeneza dlitel'no nezazhivaiushchikh ran. *Novosti Khirurgii.* 2011;19(3):101-10. http://www.surgery.by/pdf/full_text/2011_3_16_ft.pdf (in Russ.)
8. Maruyama K, Asai J, Ii M, Thorne T, Losordo DW, D'Amore PA. Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired diabetic wound healing. *Am J Pathol.* 2007 Apr;170(4):1178-91. doi: 10.2353/ajpath.2007.060018
9. Gibson DJ, Schultz G. Chronic wound diagnostic for matrix metalloproteinase. *Wound Healing Southern Africa.* 2009;2:68-70. <http://www.woundhealing.co.za/index.php/WHSA/article/view/51>
10. Sharifian Z, Bayat M, Alidoust M, Farahani RM, Bayat M, Rezaie F, Bayat H. Histological and gene expression analysis of the effects of pulsed low-level laser therapy on wound healing of streptozotocin-induced diabetic rats. *Lasers Med Sci.* 2014 May;29(3):1227-35. doi: 10.1007/s10103-013-1500-5
11. de Loura Santana C, Silva D de F, Deana AM, Prates RA, Souza AP, Gomes MT, de Azevedo Sampaio BP, Shibuya JF, Bussadori SK, Mesquita-Ferrari RA, Fernandes KP, Franza CM. Tissue responses to postoperative laser therapy in diabetic rats submitted to excisional wounds. *PLoS One.* 2015 Apr 24;10(4):e0122042. doi: 10.1371/journal.pone.0122042
12. Li Y, Zhang J, Xu Y, Han Y, Jiang B, Huang L, Zhu H, Xu Y, Yang W, Qin C. Effects of 630 nm red and 460 nm blue light emitting diode irradiation on healing of the skin wound in Japanese big-ear white rabbit. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 2017 Jun 20;39(3):301-306. doi: 10.3881/j.issn.1000-503X.2017.03.001
13. Houreld N, Abrahamse H. He-Ne laser irradiation stimulates proliferation and migration of diabetic wounded fibroblast cells. In: Waynant R, Tata DB. (eds). *Proceedings of Light-Activated Tissue Regeneration and Therapy Conference.* Springer, Boston, MA; 2008;12. p. 221-32. https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-0-387-71809-5_21
14. Zhang H, Liu S, Yang X, Chen N, Pang F, Chen Z, Wang T, Zhou J, Ren F, Xu X, Li T. LED Phototherapy with gelatin sponge promotes wound healing in mice. *Photochem Photobiol.* 2018 Jan;94(1):179-85. doi: 10.1111/php.12816

Адрес для корреспонденции

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
Витебский государственный
медицинский университет,
кафедра оперативной хирургии
и топографической анатомии,
тел. раб.: +375 212 24-08-09
моб.: +375 33 645-12-01,
e-mail: qlx2007@yandex.ru,
Рундо Алексей Иванович

Сведения об авторах

Рундо Алексей Иванович, ассистент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь. <https://orcid.org/0000-0001-8264-3197>
Косинец Владимир Александрович, д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии, Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь. <https://orcid.org/0000-0001-7127-1877>
Самсонова Инна Васильевна, к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической анатомии с курсом судебной медицины, Витебский государственный

Address for correspondence

210023, The Republic of Belarus,
Vitebsk, Frunze Ave., 27,
Vitebsk State Medical University,
Department of Operative Surgery
And Topographic Anatomy,
Tel. office.: +375 212 24-08-09,
Tel. mob.: +375 33 645-12-01,
e-mail: qlx2007@yandex.ru,
Aliaksei I. Rundo

Information about the authors

Rundo Aliaksei I., Assistant of the Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus. <https://orcid.org/0000-0001-8264-3197>
Kosinets Vladimir A., MD, Professor of the Department of Hospital Surgery with courses of Urology and Pediatric Surgery, Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus. <https://orcid.org/0000-0001-7127-1877>
Samsonova Inna V., PhD, Associate Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy with a course of Forensic Medicine, Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus. <https://orcid.org/0000-0002-6634-0935>

медицинский университет, г. Витебск, Республика
Беларусь.

<https://orcid.org/0000-0002-6634-0935>

Информация о статье

Получена 25 марта 2018 г.

Принята в печать 10 сентября 2018 г.

Доступна на сайте 31 октября 2018 г.

Article history

Arrived 25 March 2018

Accepted for publication 10 September 2018

Available online 31 October 2018
