

УДК – 616-037

## ОПТИМИЗАЦИЯ ГЕРИАТРИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ ПАЦИЕНТАМ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Трофимова С.В.<sup>1</sup>, Мирошниченко М.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.

Проблема лечения осложнений сахарного диабета продолжает оставаться актуальной в современной медицине. Одним из осложнений сахарного диабета является синдром «диабетической стопы». При данном осложнении наблюдается комплекс анатомо-функциональных изменений, приводящих к развитию ишемии (гипоксии) тканей, сопровождающихся повышенной травматизацией и инфицированием мягких тканей стопы. Следует отметить, что такие осложнения приводят к ранней инвалидизации пациентов, вплоть до ампутации стопы и летального исхода. Цель работы- исследовать местное применение дипептидного биорегулятора L-глутаминовая-L-триптофановая кислота (L-Glu-L-Trp), направленного на активацию оксигенации мягких тканей за счет угнетения синтеза фактора HIF-1 $\alpha$ , что является актуальной задачей медицины и патогенетическим подходом к лечению осложнений сахарного диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая стопа, HIF-1 фактор, дипептид, периферическая нейропатия.

## OPTIMIZATION OF GERIATRIC CARE FOR PATIENTS WITH DIABETIC FOOT SYNDROME

Trofimova S. V.<sup>1,2</sup>, Miroshnichenko M. I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sankt-Petersburg Institute of Bioregulation and gerontology, Saint Petersburg

<sup>2</sup> The National Research University «Belgorod State University» (BelsU), Belgorod, Russia

The problem of treating complications of diabetes continues to be relevant in modern medicine. One of the complications of diabetes is the "diabetic foot" syndrome. In this complication, there is a complex of anatomical and functional changes that lead to the development of tissue ischemia (hypoxia), accompanied by increased trauma and infection of the soft tissues of the foot. It should be noted that such complications lead to early disability of patients, up to amputation of the foot and death. The aim of this work is to investigate the local application of the dipeptide bioregulator L-glutamic-L-tryptophanic acid (L-Glu-L-Trp), aimed at activating soft tissue oxygenation by inhibiting the synthesis of HIF factor 1A, which is an urgent task of medicine and a pathogenetic approach to the treatment of complications of diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, diabetic foot, HIF 1 factor, dipeptide, peripheral neuropathy.

### Актуальность проблемы.

Сахарный диабет — это группа метаболических (обменных) заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией, которая является результатом нарушения секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов. Хроническая гипергликемия при сахарном диабете сопровождается повреждением, дисфункцией и недостаточностью различных органов в организме.

Основная проблема лечения осложнений сахарного диабета остается актуальной в современной медицине, так как, по данным ВОЗ, в настоящее время в мире сахарным диабетом болеют 285 млн человек. Прогнозы показывают, что к 2025 г. количество больных сахарным диабетом достигнет 380 млн человек, а к 2035 г. — 600 млн. В настоящее время в России количество больных сахарным диабетом составляет 3 121 318 человек, из них 40–60% уже имеют поздние осложнения [1]. Известно, что сахарный диабет является фактором риска для множества хронических заболеваний и одной из ведущих причин инфарктов, инсультов, почечной недостаточности, слепоты, долго не рубцующихся ран и ампутации нижних конечностей.

Лидирующее положение всех осложнений сахарного диабета принадлежит синдрому диабетической стопы. Распространенность синдрома диабетической стопы среди пациентов с диагнозом СД составляет 4–10% [1]. Заболевание чаще встречается у пожилых пациентов. Актуальность медико-социальной проблемы сахарного диабета связана с высокой прогрессирующей распространенностью, инвалидизацией и возрастающей смертностью этих пациентов.

Синдром диабетической стопы — это патологическое состояние стоп больного СД, которое возникает на фоне поражения периферических нервов, сосудов, кожи и мягких тканей, костей, суставов и проявляется острыми и хроническими язвами, костно-суставными поражениями и гнойно-некротическими процессами [3].

Основной причиной нетравматических ампутаций нижних конечностей является синдром диабетической стопы, составляющий 50–70%. Гнойно-некротические процессы на стопе развиваются еще чаще, достигая 15% у больных сахарным диабетом. Длительно незаживающие раны становятся причиной развития гнойно-воспалительных осложнений и оперативного лечения. В результате хирургического лечения у больных с синдромом диабетической стопы остаются различные раневые дефекты, которые переходят в длительно незаживающие раны.

Патогенез определяется совокупностью ряда факторов. Началом процесса является микроангиопатия. Под микроангиопатией подразумевается поражение только мелкой сосудистой сети. Основные изменения происходят в базальной мембране капилляров. Это характеризуется накоплением в ней липидов, гликопротеидов, мукополисахаридов. При этом мембрана капилляров утолщается в 2–5, отмечается ее расщепление на слои, между которыми в дальнейшем находятся коллагеновые волокна. Указанные изменения мембраны и эндотелия капилляров приводят к нарушению селективной фильтрации биологических жидкостей и обменной диффузии, что препятствует удалению продуктов обмена,

обеспечению тканей питательными веществами и кислородом [3]. Гипоксия вызывает деструктивные изменения тканей вплоть до развития гангренозно–некротического процесса. На фоне гипоксии атеросклеротические поражения (макроангиопатия) у больных сахарным диабетом развиваются на 10 лет раньше и протекают более злокачественно, при этом у таких больных наблюдается относительно редкое поражение крупных сосудов, с поражением артерий среднего и мелкого калибра артерий, что еще больше приводит к гипоксии тканей.

Исходя из вышеописанных данных, осложнения сахарного диабета приводят к ранней инвалидизации пациентов, в дальнейшем приводящим к ампутации стопы или летальному исходу. Следует отметить, что основным механизмом развития ишемии тканей при метаболических нарушениях, вызванных сахарным диабетом, является активация HIF-1(специфического регуляторного белка — гипоксией индуцированного фактора) фактора [2]. Поиск средств определения фактора HIF-1 $\alpha$  открывает возможность не только в коррекции самой гипоксии, но и в лечении осложнений сахарного диабета, таких как «диабетическая стопа».

Большинство методов лечения относится к консервативному подходу к лечению синдрома диабетической стопы, однако длительность такой терапии составляет долгие месяцы. По мнению многих авторов, стандартные схемы местной медикаментозной терапии раневых и язвенных дефектов малоэффективны. Требуется всесторонняя оценка эффективности использования современных перевязочных средств для местной терапии хронических ран и язв у больных с синдромом диабетической стопы.

В результате консервативного лечения добиться первичного заживления язвенного дефекта удается в 63–81% случаев, необходимость ампутации при длительном лечении на различных уровнях конечности возникает у 14–24% пациентов, летальность достигает 5–13%. Эти данные свидетельствуют об актуальности поиска средств для оптимизации лечения больных сахарным диабетом, имеющих хронические раны и язвы нижних конечностей [3].

Тимоген – иммуномодулирующее средство, оказывающее регулирующее влияние на реакцию клеточного, гуморального иммунитета и неспецифическую резистентность организма. Стимулирует процессы регенерации в случае их угнетения. Улучшает течение процессов клеточного метаболизма. Усиливает экспрессию дифференцировочных рецепторов на лимфоцитах, нормализует количество Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов и их соотношение у больных с различными иммунодефицитными состояниями [7]. В последние годы было проведено несколько крупных исследований, описывающих применения препарата Тимоген, который улучшает оксигенацию тканей при сахарном диабете [4].

В связи с тем, что в патогенезе диабетической стопы одной из ведущих ролей является гипоксия тканей, разработка фармакологической терапии, направленной на активацию оксигенации мягких тканей за счет угнетения синтеза фактора HIF-1 $\alpha$ , является актуальной задачей медицины и патогенетическим подходом к лечению осложнений сахарного диабета.

Так же причиной формирования незаживающих ран у этих больных считают нарушения местной и общей иммунологической реактивности, приводящих к развитию хронического воспаления, сопровождающегося усиленной секрецией провоспалительных цитокинов, изменением активности матриксных металлопротеаз (ММП), снижением продукции факторов роста, что в целом тормозит процессы регенерации и ранозаживления [6]. Данные литературы свидетельствуют о том, что L-глутамил- L-триптофан («Тимоген») оказывает модулирующее влияние на метаболические процессы, стимулирует функциональную активность клеток иммунной системы, обладает антиоксидантным действием, стимулирует процессы регенерации тканей, ускоряет заживление ран, активизирует функции клеток соединительной ткани, эндотелиоцитов, макрофагов и лейкоцитов в очаге повреждения, ингибирует продукцию гистамина и серотонина при воспалении [5].

В институте биорегуляции и геронтологии города Санкт-Петербург было проведено исследование для определения влияния дипептида L-Glu-L-Trp на активацию оксигенации и, как следствие, на заживление ран мягких тканей на фоне стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета.

**Цель данного исследования:** разработка схемы лечения с помощью местного применения дипептидного препарата Тимоген (H-L-Glu-L-Trp-OH) для улучшения оксигенации тканей.

#### **Материал и методы исследования.**

Исследование было проведено на 30 крысах-самцах популяции линии Wistar. Модель стрептозотоцина является одной из наиболее подходящих для использования в исследованиях заживления ран, поскольку позволяет оценить точную количественную оценку основных аспектов заживающей раны, таких как закрытие раны, реэпителизация и формирование ГТ (грануляционная ткань) [8, 9].

Животные рандомизировано были разделены на две группы - контрольную (n=15) и подопытную группы (n=15). Формирование экспериментальной патологии у животных подопытной и контрольной групп проводили введением стрептозотоцина (Sigma, США) в дозе 60 мг/кг однократно внутрибрюшинно.

С целью выявления биохимических и гистологических признаков диабета и его поздних осложнений у всех животных были проведены исследования в динамике (оценивали уровень глюкозы в периферической крови, ретикулоцитов), также были выполнены гистологические исследования. Оценку влияния дипептида L-Glu-L-Trp на активацию оксигенации тканей проводили с использованием иммуногистохимического исследования. Данный метод позволяет провести анализ содержания белка HIF-1 $\alpha$  в тканях животных контрольной и подопытной групп.

**Результаты исследования.** В ходе исследования было установлено, что через 5 недель у всех животных были выявлены клинические проявления сахарного диабета, которые выражались в статистически значимом увеличении концентрации глюкозы по отношению к исходным показателям (более, чем в 4 раза) (Таблица 1).

Таблица 1-Динамика изменения концентрации глюкозы в периферической крови крыс-самцов

Срок исследования (недели)	Концентрация глюкозы (ммоль/л)	
	Контрольная группа (n=15)	Подопытная группа (n=15)
0	5,2 $\pm$ 2,0	5,7 $\pm$ 1,2
5	23,5 $\pm$ 1,8*	24,4 $\pm$ 1,9*
9	19,4 $\pm$ 1,9*	15,9 $\pm$ 2,2*
11	18,6 $\pm$ 1,7*	13,4 $\pm$ 1,5*

\*  $p < 0,05$  – различия статистически значимы по сравнению с исходным показателем в контрольной и опытной группах.

На 5 неделе исследования на фоне клинического проявления сахарного диабета всем животным моделировали рану мягких тканей. Через 72 часа после моделирования раны мягких тканей животным подопытной группы ежедневно однократно внутримышечно

водили дипептида L-Glu-L-Trp в дозе 100 мкг (1.0 мг) на инъекцию в течение 10 сут. Животным контрольной группы с этого же времени по аналогичной схеме вводили физиологический раствор.

Известно, что достоверным маркером гипоксии является специфический регуляторный белок — гипоксией индуцированный фактор (HIF-1 $\alpha$ ). Активность данного фактора увеличивается при снижении напряжения кислорода в крови и в тканях организма. Показано, что этот фактор играет главную роль в системном ответе организма на гипоксию [4]. Как видно из таблицы 2, на 5 неделе исследования на фоне клинического проявления сахарного диабета у всех животных произошло достоверное повышение экспрессии HIF-1 $\alpha$  фактора. Фактор HIF-1 $\alpha$  ответственен за формирование основы долговременной адаптации к гипоксии. Потому значительное накопление в тканях HIF-1 $\alpha$  свидетельствует об ишемии тканей экспериментальных животных.

Однако к 11 неделе в подопытной группе под действием дипептида L-Glu-L-Trp уровень экспрессии HIF-1 $\alpha$  фактора оказался достоверно ниже, чем в контрольной. Полученные данные доказывают способность дипептида L-Glu-L-Trp усиливать оксигенацию тканей.

**Таблица 2-Динамика экспрессии HIF-1 $\alpha$  в тканях кожных покровов крыс**

Срок исследования (недели)	Оптическая плотность экспрессии HIF-1 $\alpha$ , у.е.	
	Контрольная группа (n=15)	Подопытная группа (n=15)
0	0,357 $\pm$ 0,032	0,360 $\pm$ 0,030
5	0,528 $\pm$ 0,04*	0,547 $\pm$ 0,042*
11	0,519 $\pm$ 0,038*	0,436 $\pm$ 0,035#*

\* $p < 0,05$  – различия статистически значимы по сравнению с исходным показателем в контрольной и подопытной группах.

#  $p < 0,05$ - различия статистически значимы по сравнению с соответствующим показателем в контрольной группе.

Известно, что на фоне хронического диабета в тканях возникает дефицит кислорода. Гипоксия усиливает экспрессию HIF-1 $\alpha$  в тканях, что запускает ответные физиологические реакции, такие как ангиогенез, эритропоэз с выходом в системный кровоток молодых эритроцитов и ретикулоцитов [9]. Доказано, что уровень ретикулоцитов в периферической крови при окислительном стрессе отражает степень гипоксии тканей [8].

Положительное влияние дипептида L-Glu-L-Trp на процессы оксигенации в тканях способствовало более быстрому заживлению ран мягких тканей, что привело к сокращению срока регенерации, появлению грануляционной ткани в ране, началу краевой эпителизации или полной эпителизации.

По результатам исследования на 11 неделе показало, что в подопытной группе полная эпителизация ран при введении дипептида в 3,2 раза превысила аналогичный показатель в контрольной группе. Кроме того, на 11 неделе наблюдения у 5 животных контрольной группы не было выявлено никаких признаков регенерации раневой поверхности.

**Вывод.** На основании данного исследования можно сделать вывод о том, что данный дипептидный препарат Тимоген, обладает антигипоксическим действием и улучшает регенерацию тканей для лечения диабетических язв.

На этих основаниях планируются дальнейшие клинические исследования для подтверждения имеющихся данных о клинической пользе применения дипептидного биорегулятора Тимоген (H-L-Glu-L-Trp-OH) у пациентов с инсулинозависимым и инсулинонезависимым сахарным диабетом, имеющих в анамнезе осложнения диабетической стопы.

#### **Список литературы.**

1. Давиденко О.П., Клинико-эпидемиологическая характеристика синдрома диабетической стопы в условиях территорий, приравненных к крайнему северу. // Журнал «Медицина и образование в Сибири», № 2 - 2014 г. 14.00.00 медицинские науки.
2. Левина А. А., Регуляция гомеостаза кислорода. Фактор, индуцированный гипоксией (hif) и его значение в гомеостазе кислорода. //Педиатрия. – 2009. – Том. 87, № 4. – с. 92-97.
3. Любарский М.С., Синдром диабетической стопы. Патогенетические подходы к лечению.//Регулярные выпуски «РМЖ» №24 от 18.12.2001 стр. 1112



4. Патент РФ № 2019129166, 08.11.2017. Трофимов А.В., Хавинсон В.Х., Ивко О.М., Трофимова С.В. Лекарственное средство, усиливающее оксигенацию тканей при диабетической стопе, и способ его применения. Патент России RU 2 717 674 C1

5. Петленко И.С., Экспериментальное изучение специфической активности L-Глутамил- L- триптофана // Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 3.

6. Хавинсон В.Х., Пептидные биорегуляторы- новый класс геропротекторов. Результаты экспериментальных исследований.//Успехи геронтологии, Том 25, номер 4,- 2012 год., с.-696-708.

7. Хавинсон В.Х., Пептиды, геном, старение. Успехи Геронтологии.2014. Т. 27, №2. С. 257-260.

8. Hirsch T., Enhanced susceptibility to infections in a diabetic wound healing model // BMC Surgery. – 2008. – Vol. 8(5). – P.1-8;

9. Mendes J., A Rat Model of Diabetic Wound Infection for the Evaluation of Topical Antimicrobial Therapies // Comparative Medicine. – 2012. – Vol. 62 (1). – P.37-48;

10. Lauterbach S, Prevalence of diabetic foot syndrome and its risk factors in the UK. J Wound Care. 2010;19:333–337. [PubMed]

The list of references.

1. Davidenko O. P., Clinical and epidemiological characteristics of diabetic foot syndrome in the conditions of territories equated to the far North. // Journal "Medicine and education in Siberia", no. 2-2014 14.00.00 medical Sciences.

2. Levina A. A., regulation of oxygen homeostasis. Hypoxia-induced factor (hif) and its significance in oxygen homeostasis. //Pediatrics. - 2009. - Vol. 87, no. 4. - pp. 92-97.

3. Lyubarsky M. S., diabetic foot Syndrome. Pathogenetic approaches to treatment.//Regular issues of " RMJ " # 24 from 18.12.2001 p. 1112

4. RF Patent no. 2019129166, 08.11.2017. Trofimov A.V., Khavinson V. Kh., ivko O. M., Trofimova S. V. a Drug that enhances tissue oxygenation in diabetic foot, and its method of application. Russian patent RU 2 717 674 C1

5. Petlenko I. S., Experimental study of the specific activity of L-Glutamyl-L-tryptophan // Modern problems of science and education. – 2019. – № 3.

6. Khavinson V. H., Peptide bioregulators - a new class of geroprotectors. Results of experimental studies.//Advances in gerontology, Volume 25, number 4, - 2012., p. - 696-708.

7. Khavinson V. H., Peptides, genome, aging. USP. Geront. 2014. Vol. 27, No. 2. Pp. 257-260.



8. Hirsch T., Enhanced susceptibility to infections in a diabetic wound healing model // BMC Surgery. – 2008. – Vol. 8(5). – P.1-8;
9. Mendes J., A Rat Model of Diabetic Wound Infection for the Evaluation of Topical Antimicrobial Therapies // Comparative Medicine. – 2012. – Vol. 62 (1). – P.37-48;
10. Lauterbach S, Prevalence of diabetic foot syndrome and its risk factors in the UK. J Wound Care. 2010;19:333–337.