

МЕТОДИКА ОБРАЗОВАНИЯ ГЕЛЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАНЕВЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Троянов А. А., Арабей А. А., Потапнев М. П., Кондратенко Г. Г.

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Нарушения обмена у пациентов с сахарным диабетом (СД) сопровождается многочисленными и глубокими изменениями в органах и тканях, в результате чего поражения кожи приводят к образованию хронических, медленно заживающих раневых дефектов. Эффективность заживления ввиду плохой регенерации раневой поверхности при данной патологии остается низкой. В 1990-х годах было установлено, что плазма крови, обогащенная тромбоцитами (ПОРФТ), при местном нанесении вызывает ускорение заживления слизистой оболочки ротовой полости, активирует регенерацию костных дефектов после удаления зубов или резекции опухолей, а также ускоряет заживление хронических язв кожных покровов. При этом приоритет отдается препаратам, получаемым из аутологичной крови, поскольку они обеспечивают совместимость и отсутствие реакций на чужеродный биологический материал. Полученные теоретические и практические знания свидетельствуют о том, что использование ПОРФТ является новым перспективным направлением современной медицины. В этой связи возникла необходимость изучения применения данного средства с целью улучшения результатов оказания помощи пациентам с ранами при СД. Для изучения биологической активности ПОРФТ в предварительном эксперименте необходимо было наносить непосредственно на раневую поверхность у животных. Образцы ПОРФТ, представляющие собой жидкую субстанцию, при нанесении на раневую поверхность локально не фиксировались и частично вытекали за пределы раны. Это потребовало разработки и изучения *in vitro* возможностей создания из образцов ПОРФТ фиксирующегося геля.

Цель исследования: выявить оптимальное сочетание ингредиентов и условия создания из образцов ПОРФТ геля для нанесения на раневую поверхность при СД.

Материал и методы. ПОРФТ получали из концентрата тромбоцитов (КТ) здоровых доноров крови, приготовленного согласно «Инструкции о порядке осуществления организациями переливания крови заготовки, переработки, хранения, реализации крови и ее компонентов» № 38 от 19.05.2011 г. Из дозы цельной крови от здорового донора получали КТ в объеме 40-50 мл. Тромбоциты концентрировали центрифугированием (20 минут при 2500 оборотов в минуту) в 2 и 4 раза от исходного объема КТ. После центрифугирования 50% супернатанта отбирали для дальнейшего использования в качестве контрольной плазмы. Нижнюю часть плазмы, содержащую осадок из тромбоцитов с примесью лейкоцитов, ресуспендировали до гомогенной взвеси для использования в дальнейшем в качестве ПОРФТ.

Методика изучения *in vitro* создания из образцов ПОРФТ фиксирующего геля состояла в следующем. На поверхность чашки Петри наносили ПОРФТ (рядом для контроля наносили образцы плазмы крови) и смешивали их с различными активаторами гелеобразования в разных объемных соотношениях (1:1 и 1:2). В качестве активаторов использовали: хлорид кальция (10% раствор), глюконат кальция (10% раствор), апротинин (5000ЕД/мл), тромбин (100ЕД/мл). Образование геля после добавления оценивали визуально, время фиксировали с помощью секундомера, свойство фиксации определяли наклонным положением чашки Петри с углом в 90^0 , исследования повторяли не менее трех раз.

Результаты и обсуждение. В процессе разработки метода получения геля ПОРФТ для нанесения на раневую поверхность при СД использовали следующие варианты постановки эксперимента (во всех вариантах в одну каплю вносили образец цельной плазмы, в другую – ПОРФТ, компоненты смешивали в соотношении 1:1 и 1:2): а) на поверхность чашки Петри отдельно наносили 2 капли 10% раствора хлористого кальция; б) на поверхность чашки наносили 2 капли 10% раствора глюконата кальция; в) на поверхность чашки наносили 2 капли раствора апротинина (5000ЕД/мл); г) данную процедуру

повторяли со смесью глюконата кальция и аprotинина в тех же пропорциях; д) эксперимент выполняли в обратном порядке – вначале на поверхность чашки Петри отдельно наносили по 2 капли образца ПОРФТ и контрольной плазмы. В каждую каплю, круговыми движениями добавляли в соотношении 1:1 и 2:1 раствор тромбина в рабочем разведении 100, 50, 20, 10 или 5 ЕД/мл и смешивали; е) процедуру, указанную в пункте д, повторяли в присутствии глюконата кальция.

Хлористый кальций и аprotинин обладали слабовыраженным гелеобразующим действием в отношении образцов плазмы и ПОРФТ. В присутствии глюконата кальция время гелеобразования было значительно меньше как у образцов ПОРФТ, так и плазмы. Тромбин обладал наиболее сильным гелеобразующим действием. При концентрации тромбина 100 ЕД/мл образцы ПОРФТ имели более быстрое образование геля по сравнению с контрольной плазмой. Отобранный в качестве подходящего активатора гелеобразования тромбин был использован для дальнейших экспериментов с целью определения эффективной дозы для гелеобразования ПОРФТ в промежутке времени (15-20 секунд), наиболее удобного при нанесении на раны кожи. Гелеобразование плазмы и ПОРФТ замедлялось при снижении концентрации тромбина. При этом достоверно различается время образования геля ПОРФТ в присутствии 100 ЕД/мл и 20 ЕД/мл тромбина независимо от присутствия глюконата кальция ($p=0,0028$ и $p=0,002$ соответственно). Присутствие глюконата кальция, обычно используемого для активации ПОРФТ, хотя и замедляло, однако существенно не влияло на время гелеобразования в образцах цельной плазмы и ПОРФТ под действием тромбина. Установлено, что высокие концентрации тромбина (100 и 50 ЕД/мл) способствуют быстрому образованию геля в образцах ПОРФТ, даже более быстрому по сравнению с образцами контрольной плазмы ($p>0,05$). Использование таких концентраций тромбина (100 и 50 ЕД/мл) приводило к гелеобразованию ещё в процессе смешивания компонентов, что препятствовало равномерному распределению ПОРФТ на поверхности. Согласно клиническим требованиям, гелеобразные лекарственные вещества для местного применения следует наносить и равномерно

распределять по раневой поверхности. Поэтому применение данного варианта ПОРФТ в клинической практике оказалось бы неприемлемым. Концентрация тромбина 20 ЕД в присутствии глюконата кальция в соотношении 2:1 признана оптимальной, так как её использование позволяло равномерно смешать и распределить компоненты на поверхности заданной площади до полного гелеобразования смеси. При этом гель из ПОРФТ имел белесовато-мутный вид и плотную, упругую консистенцию, а также достаточную адгезивную способность и не стекал при наклонном 90^0 положении чашки Петри.

Выводы:

1. При сравнительной оценке установлено, что изученные активаторы оказывают разное влияние на время гелеобразования образцов ПОРФТ, оптимальным для этой цели является тромбин.

2. Оптимальным для нанесения на кожные раны при модели СД с позиций гелеобразования и адгезивности является метод получения геля ПОРФТ путем добавления тромбина 20 ЕД/мл в соотношении 2:1 в присутствии глюконата кальция.

КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЛИТЕЛЬНО НЕ ЗАЖИВАЮЩИХ РАН ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Троянов А. А.¹, Кондратенко Г. Г.¹, Потапнев М. П.¹,
Храпов И. М.², Малиновский М. В.², Коротыш И. Н.²

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь

²УЗ «10-я городская клиническая больница»,
г. Минск, Республика Беларусь

Введение. По данным ВОЗ, распространенность сахарного диабета (СД) среди населения экономически развитых стран составляет около 6%. В Республике Беларусь число пациентов за последние 15 лет удвоилось, и на начало 2017 г., по данным официальной статистики, достигло уровня 295000 человек.