

DOI: [https://doi.org/10.34287/MMT.4\(43\).2019.5](https://doi.org/10.34287/MMT.4(43).2019.5)О. О. Біляєва<sup>1</sup>, Г. П. Козинець<sup>1</sup>, О. І. Осадча<sup>2</sup>, Є. Є. Крижевський<sup>1</sup>, М. А. Кнівець<sup>3</sup><sup>1</sup>Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика  
Київ, Україна<sup>2</sup>Державна установа «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»  
Київ, Україна<sup>3</sup>Київська міська клінічна лікарня № 6  
Київ, УкраїнаO. O. Bilyayeva<sup>1</sup>, H. P. Kozynets<sup>1</sup>, O. I. Osadcha<sup>2</sup>, Ye. Ye. Kryzhevskyy<sup>1</sup>, M. A. Knivets<sup>3</sup><sup>1</sup>Shupyk National Medical Academy of postgraduate education  
Kyiv, Ukraine<sup>2</sup>State Institution «Institute of Hematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine»  
Kyiv, Ukraine<sup>3</sup>Kyiv City Clinical Hospital № 6  
Kyiv, Ukraine

## РОЛЬ ОКСИДУ АЗОТУ В РОЗВИТКУ ЕНДОТЕЛІАЛЬНИХ ДИСФУНКЦІЙ ПРИ СИНДРОМІ ДІАБЕТИЧНОЇ СТОПИ ЗАПАЛЬНО-ГНІЙНОГО УРАЖЕННЯ КІНЦІВОК

### Nitric oxide role in development of the endothelial dysfunction in diabetic foot syndrome

#### Резюме

**Вступ.** Цукровий діабет (ЦД) викликає багато гострих і хронічних ускладнень, включаючи синдром діабетичної стопи (СДС) – серйозне ускладнення, яке може бути випробовуванням для пацієнтів і безпосередньо впливає на їх якість життя.

Одним з найефективніших методів лікування СДС є використання оксиду азоту. Головною перевагою використання NO-терапії є вплив поліфункціонального монооксиду азоту на всі фази гнійно-запального процесу.

**Мета дослідження.** Визначити особливості впливу оксиду азоту на розвиток ендотеліальних дисфункцій у хворих з синдромом діабетичної стопи.

**Матеріали та методи.** У відділенні гнійної хірургії Київської міської клінічної лікарні № 6 в 2019 році з січня по червень проліковано 76 хворих з СДС в II–V стадіях, за F. Wagner. У 47 (61,8%) хворих спостерігалась нейропатична форма СДС, а у 29 (38,2%) нейроішемічна. Згідно ступенів СДС, за F. Wagner хворі були розподілені: II – 24 (31,7%) пацієнта, III – 29 (38,1%) пацієнта, IV – 15 (19,7%) та V – 8 (10,5%).

#### Abstract

**Introduction.** Diabetes mellitus causes many acute and chronic complications, including diabetic foot syndrome (DFS) – a serious complication that can be a test for patients and directly affect their quality of life.

One of the most effective treatments for DFS is the use of nitric oxide (NO). The main advantage of using NO-therapy is the effect of polyfunctional nitrogen monoxide on all phases of purulent-inflammatory process.

**Purpose of the study.** The nitric oxide effect features on the development of endothelial dysfunctions in patients with diabetic foot syndrome are explored.

**Materials and methods.** In the department of purulent surgery at Kyiv City Clinical Hospital No. 6 in 2019 from January to June, 76 patients with DFS in stages II–V were treated by F. Wagner. In 47 (61.8%) patients the neuropathic form of DFS was observed, and 29 (38.2%) were neuroischemic form. According to the DFS rates of F. Wagner patients were distributed: II – 24 (31.7%) patient, III – 29 (38.1%) patient, IV – 15 (19.7%) and V stages – 8 (10.5%).

All patients were studied in the capillary

Всім хворим проводилось дослідження в капілярній зоні некротичного ураження вмісту оксиду азоту (NO), активність супероксиддисмутази (СОД).

**Результати та обговорення.** Сигнальна роль оксиду азоту в клітинах у високому ступені залежить від рівня супероксиду. Баланс між системами, які синтезують оксид азота і супероксидом, визначає регуляторну спрямованість сигналів, а його порушення вносить істотний внесок в запалення при ЦД.

**Висновки.** Використання NO-терапії сприяє оптимізації процесів регуляції індукції оксиду азоту та сприяє покращенню клінічних результатів в лікуванні СДС.

**Ключові слова:** цукровий діабет, синдром діабетичної стопи, оксид азоту, NO-терапія, ендотеліальна дисфункція.

zone of necrotic lesions of the content of NO, the activity of superoxide dismutase (SOD).

**Results and discussion.** The signaling role of NO in cells is highly dependent on the level of superoxide. The balance between systems that synthesize NO and superoxide determines the regulatory orientation of the signals, and its disruption contributes significantly to inflammation in diabetes.

**Conclusions.** The use of NO-therapy helps to optimize the processes of regulation of the induction of nitric oxide and to improve the clinical results in the treatment of diabetic foot syndrome.

**Keywords:** diabetes mellitus, diabetic foot syndrome, nitric oxide, NO-therapy, endothelial dysfunction.

## ВСТУП

Цукровий діабет є важким системним захворюванням, поширеність якого поступово збільшується [1].

Цукровий діабет викликає багато гострих і хронічних ускладнень, включаючи синдром діабетичної стопи – серйозне ускладнення, яке може бути випробуванням для пацієнтів і безпосередньо впливає на їх якість життя [2].

Діабетичні виразки стоп можуть призвести до ампутації нижніх кінцівок, 50–70% нетравматичних ампутацій стопи виконують внаслідок ускладнень синдрому діабетичної стопи [3–5].

Гнійно-запальні процеси при СДС є однією з найпоширеніших причин госпіталізації та пов'язані з підвищеним ризиком повторних госпіталізацій та ампутації [6–9].

Основним напрямком в лікуванні гнійних ран є хірургічна обробка, видалення з ран некротизованих і нежиттєздатних тканин, повноцінне дренирування, а також створення умов для застосування додаткових засобів місцевого лікування [10].

З розвитком сучасних технологій, було досягнуто певного прогресу в розробці методів лікування гнійних захворювань м'яких тканин з застосуванням різних фізичних методів обробки ранової поверхні: вакуумних, лазерних, радіохірургічних, гідропресивних технологій, обробка ран пульсуючим струменем антисептика, ультразвукова кавітація, фотодинамічна терапія, застосування екзогенного оксиду азоту та інше [11].

Головною перевагою використання NO-терапії, на відміну від більшості фізичних і медикаментозних методів лікування гнійно-некротичних захворювань м'яких тканин є вплив поліфункціонального монооксиду азоту на всі фази гнійно-запального процесу, а саме нормалізації мікроциркуляції, за рахунок вазодилатації, антиагрегантної та антикоагулянтної дії;

бактерицидна дія як власним, так і опосередкованим пероксинітридом внаслідок взаємодії монооксида азоту з супероксиданіоном; індукція фагоцитозу бактерій нейтрофілами і макрофагами; посилення секреції протизапальних і прорегенеративних цитокінів та факторів ангіогенезу; покращення нервової провідності; регуляція специфічного і неспецифічного імунітету; пряма індукція проліферації фібробластів, росту судин, синтезу колагену, утворення і дозрівання грануляційної тканини, проліферації епітелію; регуляція апоптозу і попередження патологічного рубцювання, що обумовлює високу ефективність даного методу лікування [12–19].

Цукровий діабет супроводжується дисфункцією ендотелію судин і останній втрачає здатність до адекватного синтезу вазодилаторів. При цьому, в умовах зниження концентрації вазодилаторів зростає рівень вазоконстрикторів і прокоагулянтів. Беручи до уваги наявні в літературі відомості про участь оксиду азоту (NO) в розвитку і прогресуванні судинних ускладнень цукрового діабету, значний інтерес представляє вивчення ролі даного з'єднання в формуванні синдрому діабетичної стопи (СДС) [20–23].

## МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Визначити особливості впливу оксиду азоту на розвиток ендотеліальних дисфункцій у хворих з синдромом діабетичної стопи.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У відділенні гнійної хірургії Київської міської клінічної лікарні № 6 в 2019 році з січня по червень проліковано 76 хворих з СДС в II–V стадіях, за F. Wagner, пацієнти були у віці від 44 до 79 років, у всіх хворих спостерігався цукровий діабет II типу. Чоловіків було – 35 (46%), жінок – 42 (54%).

Тривалість захворювання на цукровий діабет II типу складала в середньому 11,3 років. У всіх хворих була супутня патологія: ішемічна хвороба серця – у 56 (73,7%), гіпертонічна хвороба – у 61 (80,3%), гостре порушення мозкового кровообігу в анамнезі – у 11 (14,5%), інфаркт міокарда в анамнезі – 18 (23,7%), енцефалопатія – 26 (34,2%). У 47 (61,8%) хворих спостерігалась нейропатична форма СДС, а у 29 (38,2%) нейроішемічна форма. Згідно ступенів СДС за F. Wagner хворі були розподілені: II – 24 (31,7%) пацієнта, III – 29 (38,1%) пацієнта, IV – 15 (19,7%) і V стадія – 8 (10,5%).

План обстежень хворих входили: загальноклінічні методи діагностики, рентгенографія стопи в двох проекціях, бактеріологічне обстеження, ультразвукова доплерографія.

Всім хворим проводилось дослідження в капілярній зоні некротичного ураження вмісту оксиду азоту (NO), активність супероксиддисмутази (СОД) методом запропонованим В. А. Костюком та співавторами [24]. Продукцію оксиду азоту визначали по сумарному вмісту нітритів/нітратів в плазмі крові, за допомогою реактива Грісса [25].

Результати представлені, як середні значення  $\pm$  стандартні відхилення. Статистична обробка отриманої інформації проведена шляхом здійснення структурного та порівняльного аналізу з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel, Statistica 64 та Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health. Отримані дані оброблені з застосуванням методу варіаційної статистики, за t-критерієм Ст'юдента для виборок з нормальним розподілом з обчисленням показника довірчої ймовірності p (параметричний критерій).

Проаналізовано результати обстеження і лікування 15 хворих з гнійно-запальними процесами при СДС, яким після хірургічної обробки ранової поверхні, обробку ранової поверхні здійснювали, за допомогою апарату «Плазон», який генерує повітряно-плазмові потоки, що містять оксид азоту в режимі де-

струкції при наявності некротичних тканин на відстані 5 см, скануючими рухами при експозиції 1–4 сек. на 0,5 см<sup>2</sup> до формування «дегідратаційної плівки» (з температурою на осі газового потоку 90–150 °С, вміст молекул NO – 1400–1600 ppm), після кожної процедури на ранову поверхню наносять аплікаційний сорбент, шаром 1–3 мм на 24 години, на основі пірогенного нанокремнезему з іммобілізованим на його поверхні орнідазолом (Патент України на корисну модель № 112523), в післяопераційному періоді внутрішньовенно призначають препарат на основі аргініну гідрохлориду та левокарнітину 100 мл 1 раз на день, кожен день проводиться NO-терапія на ранову поверхню, зону набряку і гіперемії в режимі стимуляції [27]. Тривалість дії на одну зону розміром 1,0 × 1,0 см складає 5–10 секунд на відстані 10–15 см від насадки. Для попередження термічних уражень конструкція передбачає встановлення на стимулятор-коагулятор змінного теплового дистанціатора, застосування якого дозволяє зафіксувати фізико-хімічні параметри потоку. Його довжина вибрана таким чином, щоб температура NO-вмісного газового потоку з торця дистанціатора складала  $40 \pm 10$  °С. Всього курс лікування займає від 5 до 14 діб, в залежності від розмірів рани та характеру протікання ранового процесу (на використаний метод лікування отримано рішення про видачу Патенту України на корисну модель, заявка № u201905279).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У хворих з СДС на 7 добу було визначено зниження вмісту NO в капілярній крові зоні некротичного ураження відносно референтних значень в 1,72 рази ( $p < 0,001$ ) (табл. 1).

В той час при використанні NO-терапії нами встановлено підвищення вмісту NO відносно вихідних значень в 1,33 рази ( $p < 0,001$ ). Однак ці показники залишались зниженими відносно референтних значень в 1,29 рази ( $p < 0,01$ ).

Таблиця 1

Показники вмісту кінцевого продукту оксиду азоту, нітриту натрію та СОД в крові зони некротичного ураження у хворих з СДС ( $M \pm m$ ),  $n = 15$

Показники	Одиниці виміру	Строки дослідження, доба		Референтні значення
		2–3	7–8	
Нітрит натрію	мкмоль/л	$2,7 \pm 0,11$ $p^* = 0,001$	$3,6 \pm 0,12$ $p^* = 0,01$ $p^{**} = 0,001$	$4,69 \pm 0,42$
СОД	Од/мг білка	$0,16 \pm 0,01$ $p^* = 0,001$	$0,19 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,02$

Примітка:  $p^*$  – порівняно з референтними показниками;  
 $p^{**}$  – порівняно з вихідними значеннями

При визначенні активності СОД нами встановлено зниження показників відносно референтних значень в 1,56 рази ( $p = 0,001$ ). При

цьому визначена тенденція до підвищення значень активності СОД відносно вихідних значень в 1,27 рази.

Синдром діабетичної стопи у даної категорії хворих відноситься до числа найбільш важких ускладнень і є результатом розвитку патологічних змін судинної стінки у хворих з цукровим діабетом, що істотно збільшує ризик ускладнень. В умовах хронічної гіперглікемії, збільшення темпів і тяжкості розвитку мікроваскулярних ускладнень, знижується синтез ендотеліального NO, який утворюється завдяки активності конституційної і ендотеліальної NO-синтази (NOS). Функція NO знаходиться під постійним модулюючим впливом супероксиду і пероксиду водню, що протидіють ефекту оксиду азоту [27]. Сигнальна роль оксиду азоту в клітинах у високому ступені залежить від рівня супероксиду. Баланс між системами, які синтезують оксид азоту і супероксид, визначає регуляторну спрямованість сиг-

налів, а його порушення вносить істотний внесок в запалення при ЦД.

## ВИСНОВКИ

1. Синдром діабетичної стопи – важке та розповсюджене ускладнення цукрового діабету.

2. Новий метод лікування синдрому діабетичної стопи за допомогою NO-терапії в поєднанні з сорбентом нового покоління на основі пірогенного нанокремнезему з іммобілізованим на його поверхні орнідазолом є ефективним та перспективним.

3. Використання NO-терапії сприяє оптимізації процесів регуляції індукції оксиду азоту та сприяє покращенню клінічних результатів в лікуванні СДС.

## ЛІТЕРАТУРА

1. American Diabetes Association. Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes – 2018. *Diabetes Care*. 2018; 41 (Supplement 1): S1–S2. DOI: 10.2337/dc18-Sint01.
2. Vishnu DM, Gowda DV, Karthik S et al. Complications and risk management of diabetic foot ulcer: a review. *J Scientific Innovat Res*. 2014; 3 (3): 363–371.
3. Meriç M, Ergün G, Demirci İ, Azal Ö. It is not diabetic foot: it is my foot. *J Wound Care*. 2019; 28 (1): 30–37. DOI: 10.12968/jowc.2019.28.1.30.
4. Lipsky BA, Arag n-S nchez J, Diggle M et al. IWGDF guidance on the diagnosis and management of foot infections in persons with diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016; 32 (1): 45–74. DOI: 10.1002/dmrr.2699.
5. Aliasgharpour M, Nayeri ND. The care process of diabetic foot ulcer patients: a qualitative study in Iran. *J Diabetes Metab Disord*. 2012; 11 (1): 27. DOI: 10.1186/2251-6581-11-27.
6. Lavery LA, Ryan EC, Ahn J et al. The Infected Diabetic Foot: Re-Evaluating the IDSA Diabetic Foot Infection Classification. *Clin Infect Dis*. 2019 Jun 8. pii: ciz489. DOI: 10.1093/cid/ciz489.
7. Lavery LA, Lavery DC, Hunt NA et al. Amputations and foot-related hospitalisations disproportionately affect dialysis patients. *Int Wound J*. 2015; 12 (5): 523–526. DOI: 10.1111/iwj.12146.
8. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP et al. Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. *Diabetes Care*. 2006; 29 (6): 1288–1293. DOI: 10.2337/dc05-2425.
9. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP et al. Diabetic foot syndrome: evaluating the prevalence and incidence of foot pathology in Mexican Americans and non-Hispanic whites from a diabetes disease management cohort. *Diabetes Care*. 2003; 26 (5): 1435–1438. DOI: 10.2337/diacare.26.5.1435.
10. Kuzin MM, Kostyuchenok BM (ed). *Wounds and wound infection 2nd ed., Rev. and add.* Moscow, Medicine, 1990.
11. Lipatov KB et al. The use of physical methods in the treatment of purulent wounds. *Khirurgiya*. 2001; 10: 56–61.
12. Vanin AF. Nitric oxide is a regulator of cellular metabolism. *Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal*. 2001; 7 (11): 7–12.
13. Bilyaeva OO, Balinska MI, Ulanovich FA et al. Evaluation of complex treatment of chronic venous insufficiency in the stage of trophic ulcers with the use of nitric oxide and application sorbents. *Kharkivska khirurgichna shkola*. 2015; 6 (75): 144–147.
14. Patent 96629 Ukrayiny, MPK A61N 5/067 (2006.01) A61K 31/409 (2006.01) A61R 17/02 (2006.01). The method of treatment of trophic ulcers of venous genesis with the use of nitric oxide / Bilyaeva OO, Balinskaya MI, Ulanovich LI, Yemets VV; *zayav*. 05.09.2014; *opubl*. 10.02.2015; *Prom. Vlasnist, Byul.* № 3, 2015.
15. Yefimenko NA, Khрупkin VI, Marakhonich LA et al. Air-plasma flows and NO-therapy – new technology in the clinical practice of military medical institutions. *Voyenno-meditsinskiy zhurnal*. 2005; 5: 51–54.
16. Krotovskiy GS, Pekshev AV, Zudin A et al. Exogenous nitric oxide therapy is a new method of stimulating the healing of trophic skin defects in the presence of chronic venous insufficiency. *Grudnaya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*. 2001; 3: 37–42.

17. Krylov AY, Shulutko AM, Chirikov EG, Osmanov EG. The use of exogenous NO-therapy for the treatment of hypertensive-ischemic ulcers of the lower extremities. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2002; 2: 23–25.
18. Lipatov KB, Sopromadze MA, Schekhter AB et al. The use of a gas stream containing nitric oxide (NO-therapy) in the complex treatment of purulent wounds. *Khirurgiya*. 2002; 2: 41–43.
19. Shekhter AB, Kabisov RK, Pekshev AB et al. Experimental and clinical substantiation of plasmodynamic therapy of wounds with nitric oxide. *Byulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny*. 1998; 8: 210–215.
20. Gozhenko AI, Kuznetsova AS, Kuznetsova EC et al. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of diabetes complications Message I. Endothelial dysfunction: etiology, pathogenesis and diagnostic methods. *Endokrynologia*. 2017; 22 (2): 171–181.
21. Vanin AF. Nitric oxide is a universal regulator of biological processes. *Sbornik materialov nauch.-prakt. konf. « NO-therapy: theoretical aspects, clinical experience and problems of the use of nitric oxide in medicine» Moscow, 2001: 22–21.*
22. Shulutko AM, Antropova NV, Krueger YuA. NO-therapy in patients with diabetes mellitus complicated by purulent-necrotic lesions of the lower extremities. *Khirurgiya*. 2004; 12: 43–46.
23. Stallmeyer B, Kampfer H, Kolb N et al. The function of nitric oxide in wound repair: inhibition of inducible NO-synthase severely impairs wound reepitalization. *J Invest Dermat*. 1999; 6 (133): 1090–1098. DOI: 10.1046/j.1523-1747.1999.00784.x.
24. Kostyuk VA, Potapovich AI, Kovaleva ZhV. A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation reaction of quercetin. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1990; 36 (2): 88–89.
25. Guevara I, Iwanejko J, Dembinska-Kiec A et al. Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clin Chim Acta* 1998; 274 (2): 177–188. DOI: 10.1016/s0009-8981(98)00060-6.
26. Patent Ukrainy na korysnu model №112523, MPK (2016.01): A61K 31/00, A61R 17/02(2006.01). Kompleksnyi antymikrobnii sorbtsiynyi preparat ornidasyl dlia profilaktyky aerobnoi i anaerobnoi infektsii ta likuvannia hniinykh ran, trofichnykh vyrazok, opikiv / Biliaieva O.O., Holub O.A., Karol I.V., Neshta V.V., Kryzhevskiy Y.Y., Brodska A.P.; zaiavl. 10.05.2016, opubl. 26.12.2016, Biul. № 24.
27. Bondarenko OH, Galstyan GR, Antsiferov MB et al. The biological role of nitric oxide in diabetes. *Sakharnyy diabet*. 2001; 2: 56–63.

*Стаття надійшла до редакції 15.10.2019*