

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 617.586–002–3.089.873:616.379–008.64

БЕЗВОДИЦКАЯ
Антонина Алексеевна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ
ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ
ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**
(экспериментально-клиническое исследование)

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.00.27 – хирургия

Минск, 2008

Работа выполнена в УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Кондратенко Геннадий Георгиевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий 1-й кафедрой хирургических болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Чур Николай Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры хирургии ГУО «Белорусская государственная медицинская академия последипломного образования»

Батвинков Николай Иванович, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры хирургических болезней № 1 УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: УО «Витебский государственный медицинский университет»

Защита состоится 20 февраля 2008 г. в 14⁰⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.05 УО «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу 220073, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел.: 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан « ____ » _____ 2008 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций



А. С. Ластовка

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) является одним из распространенных заболеваний, причем заболеваемость им продолжает увеличиваться. Ежегодно число больных СД возрастает на 5–7%, а каждые 10 лет количество заболевших удваивается. По прогнозам экспертов ВОЗ к 2025 году число больных СД может составить 250 млн. человек, что послужило основанием объявить сахарный диабет неинфекционной эпидемией. К 2003 году количество больных сахарным диабетом в Республике Беларусь превысило 128000 человек (Зеньков А.А., 2004). После возникновения СД его течение осложняется развитием макроангиопатии нижних конечностей примерно через 7,2 года (Заборовский Г.И., Мацукевич Т.И., Заборовский И.Г., 1999). Синдром диабетической стопы (СДС) является одним из наиболее грозных осложнений СД (Леонович С.И. и соавт., 1996; Гришин И.Н., Чур Н.Н., 2000; Зеньков А.А., Косинец А.Н., Булавкин В.П., 2002). Раневой процесс у больных СД имеет свои особенности, которые заключаются в склонности к генерализации инфекции и снижении репаративных процессов. При использовании существующих методов длительность лечения составляет около 6–14 недель (Мыскина Н.А., Токмакова А.Ю., Анциферов М.Б., 2004) и требует значительных материальных затрат. Результаты лечения гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы до сих пор остаются неудовлетворительными (Астахова И.Н., 2001; Подпрятков С.Е. и соавт., 2002). Количество ампутаций нижних конечностей по поводу гнойно-воспалительных осложнений СДС продолжает неуклонно увеличиваться (Гришин И.Н., Чур Н.Н., 2000), что ведет к инвалидизации и росту проблем социального обеспечения тех людей, которые не могут обходиться без посторонней помощи. Между тем, в некоторых случаях эффективное лечение гнойно-воспалительных осложнений СДС предотвращает ампутацию.

Таким образом, для практического здравоохранения гнойно-воспалительные осложнения СДС являются серьезной проблемой, ряд вопросов которой может быть решен путем разработки и внедрения новых более эффективных средств и методов лечения.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами, темами

Диссертационная работа выполнена в рамках темы НИР Белорусского государственного медицинского университета «Современные подходы к диагностике и лечению гнойных хирургических заболеваний» (№ регистрации 19993761, 2000 г.), а также государственной научно-технической программы «Создание и освоение выпуска современных лекарственных средств на

основе продуктов биотехнологического и химического синтеза» (Задание 05.21, регистрационный номер НИР 20013533, 2001 г.).

Цель и задачи исследования

Цель работы – улучшить результаты лечения больных с гнойно-воспалительными осложнениями синдрома диабетической стопы путем разработки и внедрения в лечебный комплекс новых более эффективных средств и методов местного воздействия.

Для реализации поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Оценить клинические особенности гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы, эффективность применяемого в настоящее время комплексного лечения, а также результаты используемых методик местного воздействия.

2. Определить лечебную эффективность местного применения салфеток «Процелан» при комплексном лечении больных с гнойно-воспалительными осложнениями синдрома диабетической стопы.

3. Выяснить в эксперименте влияние мази «Процелан» на заживление гнойной раны, а также исследовать местную тканевую реакцию в области гнойного очага, морфологический состав крови и показатели неспецифического иммунитета.

4. Определить в клинических условиях лечебную эффективность мази «Процелан», холодоплазменного пучка и их системное и местное влияние при гнойных ранах стопы у больных, страдающих СД.

5. Выработать рекомендации по рациональному применению новых средств и способов в комплексной схеме лечения гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы.

Объектом исследования явились клинические данные о 2076 больных, лечившихся в Центре диабетической стопы г. Минска по поводу гнойно-воспалительных осложнений СДС за период 2002–2006 гг. Эксперимент выполнен на 49 белых крысах.

Предметом исследования был раневой процесс, показатели общего и биохимического анализов крови, показатели иммунитета, бактериологические посевы, биопсийный материал, гистологические и гистохимические препараты, клиническая эффективность комплексного лечения с применением холодоплазменного пучка, салфеток и мази «Процелан» при гнойных ранах и гнойно-воспалительных осложнениях СДС.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Количество больных с гнойно-воспалительными осложнениями синдрома диабетической стопы продолжает увеличиваться. В структуре осложнений преобладают инфицированные раны и трофические язвы

(37,8%), гангрены (27,0%), флегмоны и остеомиелит (21,9%), в 31,6% выполняются повторные операции, 38,9% больных выписываются из стационара с неэпителизированными раневыми дефектами.

2. Салфетки «Процелан» положительно влияют на течение раневого процесса, при их применении не возникает отрицательных изменений морфологического состава, биохимических и электролитных показателей периферической крови.

3. Использование повязок с мазью «Процелан» после этапных некрэктомий при комплексном лечении гнойно-воспалительных осложнений СДС способствует очищению и заживлению ран.

4. Методика местного лечения гнойно-воспалительных осложнений СДС, включающая в лечебный комплекс применение холодоплазменного пучка и новых препаратов местного действия, позволяет сократить сроки пребывания больных в стационаре и снизить летальность.

Личный вклад соискателя

Работа выполнена на клинической базе 1-й кафедры хирургических болезней Белорусского государственного медицинского университета. Личное участие автора состояло в планировании и проведении всех этапов экспериментального и клинического исследования. Автор принимал непосредственное участие в лечении больных, включая хирургические вмешательства. Сбор сведений о больных, формирование базы данных основных и контрольных групп, работа с архивными документами, статистическая обработка собранных материалов, их интерпретация выполнены автором. Выводы и практические рекомендации сформулированы лично автором диссертации.

Апробация результатов диссертации

Материалы результатов исследования доложены и обсуждены на научных сессиях БГМУ «Дни белорусской медицинской науки» (г. Минск, 2004, 2005, 2006). Материалы результатов исследования доложены и обсуждены на: XXIV Пленуме Правления Ассоциации белорусских хирургов (г. Минск, 2004); международной конференции, посвященной 200-летию госучреждения «432-й ордена Красной Звезды главный военный клинический госпиталь Вооруженных Сил Республики Беларусь» (г. Минск, 2005); 2-й Всероссийской конференции «Актуальные вопросы гнойно-септической хирургии» (Красноярск, 2005); XIII съезде хирургов Республики Беларусь (г. Гомель, 2006); республиканской конференции «Аминокислоты: от эксперимента к клинике» (г. Минск, 2007).

Опубликованность результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ. Из них в рецензируемых журналах – 4, в материалах конференций и тезисы докладов –

7, изданы методические рекомендации «Синдром диабетической стопы». Общее количество страниц опубликованных материалов – 2 авторских листа. По результатам исследований получены удостоверения на 4 рационализаторских предложения (№ 1577, № 1578, № 1586, № 1587), инструкция на метод лечения утверждена МЗ РБ (№ 068-0907 от 9.10.2007). Подана заявка на изобретение в Республиканский Центр интеллектуальной собственности на метод лечения гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы (уведомление о положительном результате предварительной экспертизы № а 20070889 от 17.10.2007).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 132 страницах печатного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материалов и методологии исследования, трех глав результатов собственных исследований, заключения, библиографического указателя, списка публикаций автора и приложений. Основные положения диссертации, исключая таблицы, рисунки и библиографию, изложены на 80 страницах, список литературы включает 255 источников, из них 182 работы отечественных и 73 работы зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 43 таблицами и 39 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Основу клинического материала по совершенствованию лечения гнойно-воспалительных осложнений СДС составили данные о 2076 больных Центра диабетической стопы г. Минска. На опыте лечения 1214 больных в период 2002–2004 гг. изучены общие тенденции в частоте и структуре данной патологии, особенности применявшегося лечебного комплекса, его эффективность и определены пути совершенствования. Разработка, клинические исследования новых средств и методов и изучение результатов усовершенствованного комплексного лечения больных с гнойно-воспалительными осложнениями СДС (n = 817) выполнены за период 2005–2006 гг. Исследования носили проспективный и ретроспективный характер. Выборка больных и историй болезней для исследования проводилась сплошным методом. Критерием отбора являлось наличие у больного СД и гнойно-воспалительных осложнений СДС.

Экспериментальное исследование проведено на 49 животных, изучено местное и системное влияние нового средства «Процелан» при гнойно-воспалительном процессе.

«Процелан» (салфетка и мазь) разработан в НИИ физико-химических проблем БГУ. Салфетка «Процелан» представляет собой трикотажное полотно окисленной целлюлозы, содержащей иммобилизованные антибиотик цефалексин и аминокислоту L-пролин. Иммобилизация биологически активных веществ на окисленной целлюлозе осуществляется за счет электростатического взаимодействия, что позволяет сохранить активность иммобилизованных веществ и пролонгировать их действие. Основными биологически активными компонентами в составе мази «Процелан» также являются цефалексин и L-пролин. Полное химическое название L-пролина: пирролидин-2-карбоновая кислота. Эта аминокислота входит в состав подавляющего большинства белков организма, однако, оксипроизводное ее особенно характерно для белков соединительной ткани. После воздействия повреждающего фактора в ране возникают деструктивные изменения коллагеновых волокон и их распад на отдельные фрагменты (Аничков Н.Н., Волков К.Г., Гаршин В.Г., 1951), которые впоследствии не могут быть использованы для неоколлагеногенеза. Синтез коллагена происходит только при наличии аминокислоты L-пролин, после ее окисления начинается сборка полипептидных цепочек коллагена (Росс Р., 1970).

Экспериментальную модель гнойно-воспалительного процесса у животных воспроизводили в области спинки, участок кожи подвергали раздавливанию зажимом типа «Бильрот», здесь же подкожно вводили 1 мл микробной взвеси, содержащей 1 млрд микробных тел золотистого стафилококка. На 3-и сутки в этом месте образовывался гнойник, вскрытие которого производилось скальпелем. В результате на спинке животных образовывалась гнойная рана размерами 1,0–1,5 × 0,5–1,0 см. Животные были разделены на 4 группы: в первой группе (n = 13) на рану наносили мазь «Процелан», во второй группе (n = 13) – гентамициновую мазь, в третьей группе (n = 13) – антибиотик цефалексин с последующей фиксацией лейкопластырной повязкой. Контрольную группу составляли животные (n = 10), у которых лечение гнойной раны не проводилось. На 3-и, 10-е и 17-е сутки в каждой группе производилось снятие животных с опыта, кусочки кожи, включающие рану и прилежащие участки, брали для гистологического исследования. Окраску выполняли гематоксилином и эозином (n = 28), процесс формирования коллагеновых волокон изучали при окраске по Ван-Гизон и МАГ (марциус-алый-голубой). Микроорганизмы окрашивали по Гимза. Изучали лейкоцитарный состав периферической крови (n = 26) (приготовление стекл-мазков с окраской по Яхонтовой) и выполняли исследование иммунологических показателей (n = 41). Определялись бактерицидная активность сыворотки крови (метод реплик), активность комплемента (по 50% гемолизу, метод Резникова Л.С.), содержание лизоцима

(спектрофотометр «Solar» 1251 PV) и циркулирующих иммунных комплексов (по методу Гриневиц Ю.А., Алферов А.Н., 1981 г).

Клинические исследования включали изучение результатов использования холодоплазменной коагуляции при гнойно-воспалительных процессах. Коагулятор ПК-001 «Радуга», изготовленный ГУП «Всероссийский электротехнический институт» (г. Москва), позволял получить холодоплазменный пучок, которым осуществлялась коагуляция. В обрабатываемых тканях выделялось незначительное количество тепла, глубина термического воздействия на ткани составляла 0,1–0,2 мм. Плазменный пучок вызывал ионизацию воздуха с образованием озона, который обеспечивает обеззараживающий эффект. С использованием холодоплазменного пучка лечилось 25 больных (основная группа), страдающих СД и имеющих гнойно-некротические осложнения СДС. В группу сравнения вошло 25 больных с аналогичной патологией, местное лечение которых включало перевязки, туалет ран с антисептиками, хирургическую обработку и повязки с раствором $KMnO_4$.

Клиническое исследование результатов применения «Процелана» (салфетка, мазь) проведено в соответствии с решением Фармкомитета МЗ РБ (протокол № 4 от 29.04.2004 г.) и распоряжением Минздрава РБ № 01-03-09/2941. Отбор пациентов (n = 90) проводился сплошным методом по мере их поступления в стационар. Критериями отбора являлось наличие у больных сахарным диабетом гнойно-некротических язв и ран на стопе. В контрольной группе больных лечение аналогичной патологии проводилось с применением мази «Левомеколь» (n = 30). Местные тканевые реакции изучались при перевязках на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е сутки. Учитывалась динамика таких признаков раневого процесса, как очищение ран от некротических масс, количество гнойного отделяемого и появление краевой эпителизации. Результаты оценивались по балльной шкале: 0 баллов – отсутствие изменений изучаемого признака; 1 балл – слабо выраженные изменения признака; 2 балла – умеренно выраженные изменения признака; 3 балла – выраженные изменения признака. Анализы крови выполнялись автоматическим гематологическим анализатором К-1000 (Сисмекс, Дания). Для изучения биохимического анализа использовался автоматический анализатор СХ5 (Бекмен, США). Бактериологические исследования (n = 205) выполнены автоматизированным биохимическим анализатором АТВ-Expression фирмы «bioMerieux» (Франция).

Из ран на 1-ые, 3-и и 7-ые сутки после применения мази «Процелан» брались «мазки-скарификаты», материал фиксировался в растворе ацетона, окрашивался по Романовскому, для визуализации микробных тел использовалась окраска по Гимза (n = 26).

Поскольку в состав мази «Процелан» входит аминокислота L-пролин, участвующая в синтезе коллагена, определенный интерес представляли более подробные сведения об особенностях заживления ран при применении этого средства. Исследование особенностей регенераторно-репаративного процесса в сравнительном плане проводилось с помощью иммуногистохимических методик, изучены: 1) активность ангиогенеза; 2) интенсивность ретракции раневого пространства; 3) интеграция эпителиальных клеток в покровный слой.

Активность ангиогенеза изучалась с помощью маркера эндотелиальных клеток CD 34, который позволял визуализировать сосуды в ране, в том числе и новообразованные. Количество микрососудов, маркированных CD 34, подсчитывалось на большом увеличении микроскопа (увеличение в 400 раз) в наиболее васкуляризированных участках, в так называемой «горячей точке». Любую иммунореактивную эндотелиальную клетку, которая была отделена от смежных микрососудов, считали «исчисляемым» сосудом. При этом большие сосуды (артерии, вены) служили положительным контролем. Для выявления интенсивности ретракции раневого пространства изучался процесс трансформации фибробластов в миофибробласты, которые способны контактировать между собой, сокращаться и сближать края раны. Миофибробласты определялись по выявлению α -актиновых микрофиламентов путем использования моноклональных антител к α -SMA. Интенсивность эпителизации определялась путем исследования процесса интеграции эпителиальных клеток в покровный слой, который осуществляется с помощью молекул адгезии – молекул кадгерин-катенинового комплекса. Динамика экспрессии последних выявлялась с использованием моноклональных антител к E-кадгерину и β -катенину. Для иммуногистохимического окрашивания использовались срезы толщиной 4 мкм ($n = 10$), моноклональные антитела к CD 34 (разведение 1:200), к E-кадгерину (разведение 1:100), к β -катенину (разведение 1:100), к α -SMA (фирма DAKO, разведение 1:300). В качестве базового применялся 0,05М Трис-буфер (pH 7,4) (Serva) с добавлением сапонина (0,01%). В качестве визуализирующей системы применялся EnVision (DAKO), в качестве хромогена – диаминобензидин в концентрации 1мг/мл. Препараты помещали в ксилол на 1 мин, докрашивали гематоксилином Майера (Sigma) и заключали в «канадский бальзам». Иллюстрации микропрепаратов выполнялись с использованием цифровой фотокамеры DC 200 производства фирмы Leica.

Все полученные цифровые данные подвергали статистической обработке. Статистическая достоверность различных выборочных совокупностей оценивалась критерием Стьюдента (t) и считалась достоверной при вероятности свыше 95% и доверительном интервале

-1,96 +1,96 ($p < 0,05$) и высокодостоверной при вероятности свыше 99,9% и доверительном интервале -3,09 ... +3,09 ($p < 0,001$).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

За период с 2002 по 2004 гг. в Центре диабетической стопы лечилось 1214 пациентов. В 2002 году было госпитализировано 332 больных, в 2003 году – 449 больных, а 2004 году – 433 больных (рост составил 26,4%). Подавляющее большинство гнойно-воспалительных осложнений СДС – это трофические язвы пальцев стопы, стопы и голени, по годам они составили соответственно 20,5%, 32,5% и 36,3%. Вторым по частоте возникновения были гангрены и флегмоны стопы (17,2% и 13,9% в 2002 году и 13,4% и 7,6% в 2004 году соответственно). Отмечена тенденция к уменьшению гангрен пальцев стопы и остеомиелита костей стопы в сочетании с флегмоной (5,4% в 2002 году и 3,9% в 2004 году соответственно с 3,6% в 2002 году и 1,9% в 2004 году). Подавляющее большинство пациентов (89,8%) были в возрасте старше 50 лет. В большинстве случаев (91,5%) гнойно-воспалительные осложнения СДС протекали на фоне одного или нескольких сопутствующих заболеваний. Больные страдали 2-м типом сахарного диабета (94,8%, 93,5% и 95,2% по годам соответственно). У абсолютного большинства больных с гнойно-воспалительными осложнениями СДС ($n = 1056 - 86,9\%$) длительность сахарного диабета была больше 6 лет. Из 1214 пациентов 774 были оперированы, это составило 63,8% (в 2002 году – 234, в 2003 – 265 больных, а в 2004 году – 275). Повторные оперативные вмешательства (31,6%) в основном были связаны с прогрессированием гнойных и некротических процессов на стопе, когда общее и местное лечение не приводило к желаемому эффекту. Процент вторичного заживления ран в послеоперационном периоде был достаточно высоким – 60,9%. Эти больные особенно нуждались в применении высокоэффективных средств местного действия. Количество больных, выписавшихся из стационара с неэпителизированными язвенными дефектами или ранами, представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Состояния раневого дефекта на момент выписки из стационара в период 2002–2004 годов

Годы	Состояние язвенного дефекта или раны	
	Эпителизированный	Неэпителизированный
2002	14	104
2003	42	183
2004	20	185
Всего	76	472

Такое большое количество пациентов ($n = 472 - 38,9\%$), выписанных на амбулаторное лечение с незажившими дефектами на стопе, связано с замедленным процессом репарации в очагах поражения и использованием малоэффективных методик местного лечения.

Ранозаживляющий эффект во многом зависит от используемого препарата. Для внедрения в клиническую практику нового более эффективного средства местного действия были проведены экспериментальные исследования. У животных моделировали гнойную рану, перед началом лечения для определения сопоставимости параметров гнойно-воспалительного процесса брали мазок-отпечаток из ран. Достоверные различия сравняемых параметров в различных группах отсутствовали. Показатели лейкоцитарного состава крови животных на 3-и сутки после применения мази «Процелан» и гентамициновой мази существенно не отличались. Однако, на 10-е и 17-е сутки после применения гентамициновой мази общее число лейкоцитов было несколько выше ($10,35 \pm 1,56 \times 10^9$ и $9,27 \pm 0,88 \times 10^9$ соответственно). На 3-е сутки после применения мази «Процелан» показатели бактерицидной активности сыворотки крови, активность комплемента и содержание лизоцима достоверно не отличались от аналогичных показателей контрольной группы ($p > 0,05$). Однако, содержание циркулирующих иммунных комплексов в опытной группе животных было достоверно ($p < 0,05$) выше. На 17-е сутки лечения в группе, где использовалась мазь «Процелан», достоверно выше ($p < 0,05$) были показатели активности комплемента, содержания лизоцима и циркулирующих иммунных комплексов. Гистологические исследования через 3 суток от начала лечения показали однотипность изменений в созданной инфицированной ране, однако, при применении мази «Процелан» основные морфологические изменения, характеризующие гнойное воспаление, были выражены в меньшей степени. Так, язвенный дефект кожи с гнойно-некротическими изменениями в дне сохранялся в течение первых 3 суток, к 10-м суткам происходило практически полное очищение раны от гнойно-некротического детрита и формирование соединительнотканного рубца, чего не наблюдалось в указанные сроки в случаях применения гентамициновой мази и цефалексина. В случаях применения гентамициновой мази и цефалексина ткани были инфильтрированы большим числом нейтрофилов. Недостаточность фагоцитоза выражалась в том, что нейтрофилы, потерявшие частично или полностью свои гранулы, не поглощали бактерий, расположенных рядом с их плазматической мембраной. Таким образом, по данным эксперимента мазь «Процелан» более эффективно купирует гнойно-воспалительные процессы, ускоряет процессы репаративной регенерации и заживление инфицированных дефектов кожных

покровов. Эти данные легли в основу решения Фармкомитета МЗ РБ о проведении клинических испытаний мази «Процелан» (протокол № 01-03-09/1688 от 12.03.2005 г.)

Для улучшения результатов лечения гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы нами впервые изучена ($n = 115$) клиническая эффективность новых средств местного действия: салфетки и мази «Процелан» (90 больных), а также холодоплазменной коагуляции (25 больных). Из 25 пациентов, которым была применена холодоплазменная коагуляция, 22 были оперированы, 7 больных оперированы дважды. Выполнялись этапные некрэктомии и другие операции на стопе, после которых полное закрытие раневых дефектов не предпринималось. Число обработок ран холодоплазменным пучком – от 3 до 5 в зависимости от состояния раны, во время обработки болевые ощущения отсутствовали. Местные тканевые реакции в области применения холодоплазменной коагуляции изучались при перевязках на 1-е, 3-и, 5-е, 7-е сутки. Наиболее выраженная динамика наблюдалась в очищении ран от некротических масс, гнойного отделяемого и появлении краевой эпителизации. Бактериологические исследования показали, что после обработки холодоплазменным пучком в ранах наблюдалось снижение количества колониеобразующих единиц в миллилитре *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter*, *Corynebacterium*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter*. Произошли и качественные изменения микробного пейзажа – в раневом отделяемом стали высеваться *Streptococcus α-hemolyticus* и *Acinetobacter*, что можно объяснить недостаточным пролонгированным антимикробным эффектом.

Для обеспечения пролонгированного антимикробного действия в ране использовались новые средства отечественного производства – салфетка и мазь «Процелан». Салфетка «Процелан» применена при лечении 30 больных (мужчин – 19, женщин – 11). В контрольной группе ($n = 30$) применяли салфетки с 0,05% $KMnO_4$. Всем больным в период нахождения в стационаре или до поступления было предпринято оперативное лечение. Статистически значимой разницы основных морфологических показателей крови в контрольной и основной группах не наблюдалось ($p > 0,05$). Биохимические показатели крови пациентов, характеризующие различные виды обмена, а также электролитный состав крови, свидетельствовали об отсутствии отрицательного влияния препарата на функции ряда паренхиматозных органов и электролитный обмен. Изучение хода заживления ран выявило некоторые особенности при применении салфеток «Процелан». Установлено, что уменьшение болевых ощущений в ране и уменьшение гнойного отделяемого из раны было более выражено в контрольной группе. Это послужило основанием к изменению лекарственной формы препарата

«Процелан» и созданию мази «Процелан», которая по экспериментальным данным обладает выраженным лечебным эффектом.

«Процелан» (мазь) в клинических условиях вначале была применена при инфицированных ранах, ожогах, трофических язвах и других гнойно-воспалительных заболеваниях мягких тканей. Среди больных, получавших лечение с применением мази «Процелан» (основная группа, $n = 30$), мужчин было 18 (60%), женщин – 12 (40%). В контрольной группе применялась мазь «Левомеколь» ($n = 30$). Период применения мази «Процелан» длился от 5 до 14 суток, в среднем 10–12 дней. Основное внимание было сконцентрировано на динамике раневого процесса. Боли в области раны уменьшились сразу после применения мази «Процелан», однако, достоверное ($p < 0,05$) снижение их отмечалось к 7-м суткам. Количество гнойного отделяемого также уменьшалось в 1-е сутки после применения нового средства, в дальнейшем эта динамика была более выраженной ($p < 0,05$). На 1-е сутки после применения мази «Процелан» достоверно ($p < 0,05$) уменьшилась отечность тканей в области раны, в контрольной же группе подобные изменения отмечены только на 3 сутки ($p < 0,05$). После применения мази «Процелан» достоверно ($p < 0,05$) уменьшились лейкоцитоз и палочкоядерный нейтрофиллез. Основные биохимические показатели крови больных до и после применения мази «Процелан» находились в пределах нормы. Результаты бактериологического исследования свидетельствовали о сопоставимости процесса элиминации патогенной микрофлоры из ран у больных обеих групп. Полученные результаты послужили основанием к применению данного средства для лечения гнойно-воспалительных процессов в условиях нарушенной микроциркуляции, которая наблюдается при синдроме диабетической стопы.

Для лечения гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы мазь «Процелан» применена у 30 больных. Больным контрольной группы ($n = 30$) использовали мазь «Левомеколь». Средний возраст больных основной группы составил $60,9 \pm 1,9$ года. Мужчин и женщин было примерно одинаковое количество – 46,7% и 53,3% соответственно. Больные основной и контрольной групп страдали сахарным диабетом 2-го типа, длительность заболевания в среднем была $15,2 \pm 2,5$ года. У всех больных был сохранен артериальный магистральный кровоток на стопе, что представляло возможность сохранения конечности при комплексной терапии в сочетании с эффективным местным лечением. Больше половины больных (66,7% и 70% в каждой группе соответственно) страдали ИБС. В основной группе первичное оперативное пособие выполнено 22 больным, что составило 73,3%, в контрольной группе операции выполнены у 26 больных (86,7%). Характер оперативных

вмешательств был идентичным. После использования мази «Процелан» у больных достоверно ($p < 0,05$) уменьшились лейкоцитоз и палочкоядерный нейтрофиллез, что являлось признаком снижения системной воспалительной реакции. Достоверных различий в биохимических показателях после применения мази «Процелан» не наблюдалось, что свидетельствовало об отсутствии значимого отрицательного влияния нового средства на различные виды обмена. Местные тканевые реакции в области применения мази «Процелан» изучались на протяжении 15-и суток. Основное внимание уделялось следующим параметрам раневого процесса: наличие болей в области раны, отечность тканей, наличие некротических масс, гнойного отделяемого, гиперемия кожи вблизи раны, развитие грануляций, эпителизация. Боли в области раны уменьшились в 1-е сутки после применения мази «Процелан», однако достоверное ($p < 0,05$) снижение их отмечалось к 3-м суткам. Отечность тканей в области гнойного очага имела четкую тенденцию к уменьшению. Количество гнойного отделяемого и боли уменьшились в 1-е сутки после применения нового средства, в дальнейшем эта динамика была более выраженной ($p < 0,05$). Гиперемия кожи, окружающей рану, была выражена незначительно и после 3-х суток применения мази «Процелан» полностью разрешилась. Начиная с 3–5-х суток лечения отмечалось появление грануляций и слабо выраженной эпителизации с краев, а также и уменьшение раневой поверхности, но достоверное ($p < 0,05$) нарастание этих признаков наблюдалось после 7-х суток. Динамика развития грануляций и эпителизации краев раны, начиная с 5-х суток и на протяжении всего периода наблюдения, более интенсивно ($p < 0,05$) происходила в основной группе по сравнению с контрольной (рисунок 1).

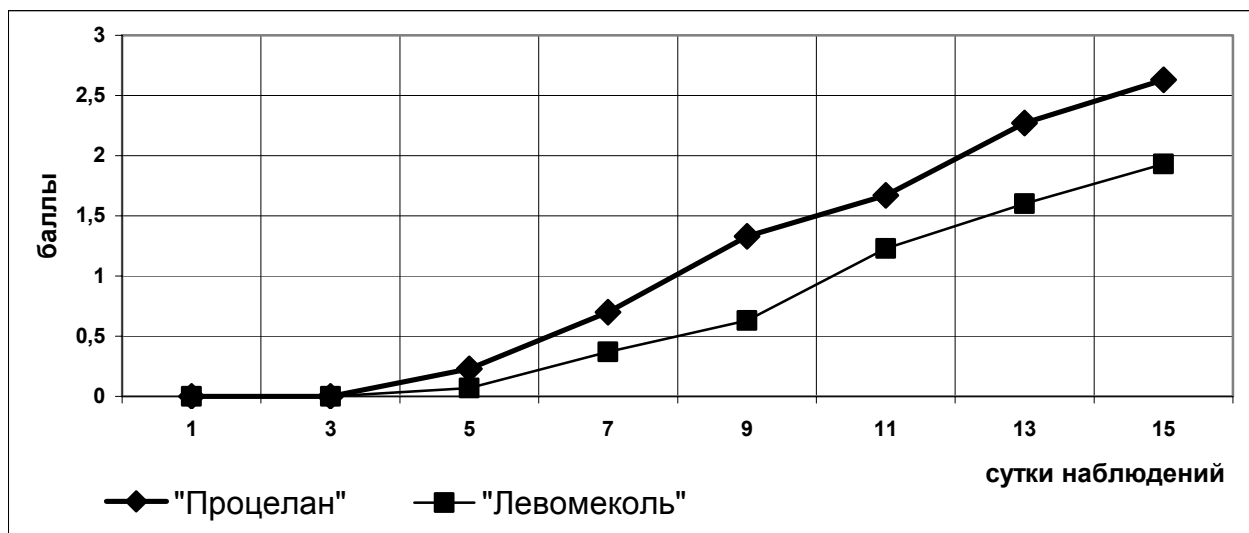


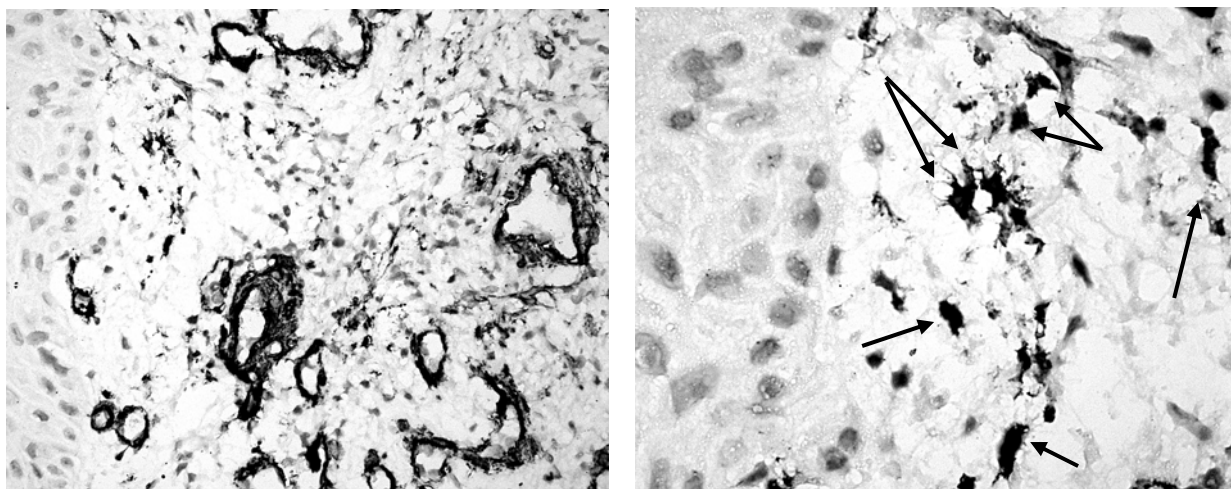
Рисунок 1 – Динамика развития грануляций в ране при применении мазей «Процелан» и «Левомеколь»

Цитологическая картина на 1-е сутки лечения при применении обоих препаратов носила однотипный характер. В препаратах выявлялись изменения, характерные для гнойного воспаления с наличием большого количества полиморфных микробных тел, неизменных и распадающихся полиморфноядерных нейтрофильных лейкоцитов. На 3-и сутки уменьшалось количество микроорганизмов и нейтрофильных лейкоцитов, эти процессы были несколько более выражены при применении мази «Процелан». Цитологическая картина к 7-м суткам имела существенные различия в зависимости от применяемой мази. У пациентов контрольной группы наблюдались незначительные изменения по сравнению с 3-ми сутками от начала лечения. При применении мази «Процелан» в эти сроки определялись пласты эпителиальных клеток и фибробластов, а микробные тела были единичными. На 15-е сутки у пациентов обеих групп отмечалось полное очищение ран, однако, процессы эпителизации были лучше выражены при применении мази «Процелан».

Для изучения более тонких процессов, происходивших при заживлении ран, проведено иммуногистохимическое исследование биопсийного материала краев ран. Особенности ангиогенеза были определены с помощью маркера эндотелиоцитов CD 34. Любой иммунореактивный эндотелиоцит, который был отделен от смежных микрососудов, считали «исчисляемым» сосудом. Процессы ангиогенеза были более выражены после применения мази «Процелан». Контракция раны при заживлении начинается с появления миофибробластов, которые напоминают гладкомышечные клетки и способны сокращаться, что приводит к сближению краев раны. Трансформация фибробластов в миофибробласты определялась по появлению α -актиновых микрофиламентов при использовании моноклональных антител к α -SMA. Иммуногистограмма на 7-е сутки наглядно демонстрировала большее накопление миофибробластов при использовании мази «Процелан» (рисунок 2). Поскольку в процессе интеграции эпителиальных клеток в покровный слой ключевую роль играют молекулы адгезии, нами изучена динамика экспрессии молекул кадгерин-катенинового комплекса с использованием моноклональных антител к E-кадгерину и β -катенину. Молекулы адгезии имели внутрицитоплазматическую и мембранную локализацию в виде четкой ровной линии, очерчивающей границы эпителиальных клеток. В эпителии отмечались участки различной интенсивности окрашивания, причем более выраженная экспрессия молекул адгезии была в эпителиоцитах краев ран после применения мази «Процелан», что свидетельствовало о более интенсивном процессе эпителизации.

Таким образом, местное применение новой отечественной мази «Процелан» при лечении гнойных ран и гнойно-воспалительных осложнений

СДС оказывает более выраженное положительное влияние на течение раневого процесса, чем импортная мазь «Левомеколь». Методика, включающая холодоплазменную коагуляцию гнойно-некротических масс и местное применение мази «Процелан» рекомендована в качестве способа выбора при лечении гнойно-воспалительных осложнений СДС.



А – окрашивание в коричневый цвет гладкомышечных элементов кровеносных сосудов и многочисленных миофибробластов, Б – то же, на большем увеличении видны многочисленные отростчатые α -SMA-позитивные миофибробласты в строме (стрелки). Хромоген диаминобензидин, контрокрашивание гематоксилином Майера, А \times 40, Б \times 100

Рисунок 2 – 7-е сутки применения мази «Процелан».

Иммуногистохимическое окрашивание с антителами к α -SMA

Для изучения результатов применения усовершенствованного комплексного лечения гнойно-воспалительных осложнений СДС проведено сравнение основных показателей лечебной деятельности Центра диабетической стопы за два равновеликих периода (2002–2003 гг. и 2005–2006 гг.) до и после внедрения новых методов в клиническую практику. В первом периоде было стационарно пролечено 817 профильных больных, средний койко-день составил 22,9, умерло 17 больных, общая летальность составила 2,1%. Во втором периоде пролечено таких больных в стационаре 862, (на 45 больных больше – 9,5%). При этом средний койко-день уменьшился на 3,6 и составил 19,3 дня, уменьшилось и число умерших ($n = 13$), общая летальность снизилась до 1,5%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Число больных с гнойно-воспалительными осложнениями синдрома диабетической стопы с 2002 по 2004 гг. увеличилось на 26,4%. Подавляющее

большинство из них – лица старше 50 лет, страдающие сахарным диабетом 2-го типа (95,3%) с длительностью заболевания больше 6 лет и имеющие сопутствующую патологию со стороны сердечно-сосудистой системы в 89,2% случаев по отношению к другим сопутствующим заболеваниям. В структуре гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы преобладают инфицированные раны и трофические язвы (37,8%), гангрены (27,0%), флегмоны и остеомиелит (21,9%), по поводу которых повторные операции выполняются в 31,6% случаев. При этом вследствие медленных процессов репарации и использования недостаточно эффективных средств и способов местного лечения большое число больных (38,9%) выписываются из стационара с неэпителизированными раневыми дефектами [1, 12].

2. Применение салфеток «Процелан» в комплексном лечении гнойно-воспалительных процессов не вызывает отрицательных изменений морфологического состава периферической крови, а также биохимических и электролитных показателей. Салфетки «Процелан» оказывают положительное влияние на течение раневого процесса при лечении гнойных ран, однако, в сравнении с широко применяемыми растворами антисептиков уступают им по динамике уменьшения гнойного отделяемого и выраженности болевых ощущений в ране. Это послужило основанием к изменению лекарственной формы препарата «Процелан» и созданию новой лекарственной формы – мази «Процелан» [7, 8].

3. Экспериментальные исследования системного и местного влияния мази «Процелан» при лечении гнойно-воспалительных процессов мягких тканей выявили отсутствие негативного воздействия на лейкоцитарный состав крови и иммунологические показатели, характеризующие системную воспалительную реакцию. При местном применении в эксперименте мазь «Процелан» эффективно купирует гнойно-воспалительные процессы, ускоряет процессы репаративной регенерации и заживление инфицированных дефектов кожных покровов [3, 4].

4. При клиническом использовании мазь «Процелан» не оказывает отрицательных влияний на морфологический состав периферической крови, а также на электролитные и биохимические показатели, характеризующие различные виды обмена в организме больных. При гнойно-воспалительных осложнениях синдрома диабетической стопы это средство оказывает выраженное положительное влияние на течение раневого процесса, заключающееся в уменьшении гнойного отделяемого, элиминации патогенной микрофлоры, уменьшении отека тканей и болей в области раны, а также в стимуляции репаративных процессов. Холодоплазменная коагуляция гнойно-некротических масс в ране способствует быстрейшему

очищению раневой поверхности от нежизнеспособных тканей, что ускоряет заживление ран при гнойно-воспалительных осложнениях СДС [2, 3, 10, 11].

5. Комплексное лечение гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы, включающее использование новых высокоэффективных средств и методов местного воздействия, способствует улучшению результатов со снижением средней продолжительности пребывания больных в стационаре (с 22,9 койко-дней до 19,3 койко-дней) и общей летальности с 2,1% до 1,5% [1, 6].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. В комплексном лечении гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы рекомендуется использовать местное воздействие холодоплазменного пучка.

2. В результате клинических исследований определены показания к использованию нового отечественного препарата – салфетка «Процелан» при лечении гнойно-воспалительных заболеваний (регистрационное удостоверение МЗ РБ № 05/10/1306), которые включены в официальную инструкцию по применению в практическом здравоохранении (Фармакопейная статья № 0930-05 утверждена Минздравом РБ).

3. Экспериментальные исследования и клинические испытания выявили выраженное лечебное влияние нового средства – мази «Процелан» при гнойных и длительно незаживающих ранах различной локализации, включая гнойно-воспалительные осложнения синдрома диабетической стопы, при которых рекомендуется использовать данное средство (регистрационный № 06/11/1406, официальная инструкция по применению и Фармакопейная статья утверждены Минздравом РБ № 1036-06).

4. Разработанная методика местного лечения гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы с использованием мази «Процелан» рекомендуется к практическому применению (инструкция на метод утверждена Минздравом РБ, регистрационный № 068-0907).

5. Рационализаторские предложения по результатам исследований, на которые получены регистрационные удостоверения (№ 1577, № 1578, № 1586, № 1587, утвержденные БГМУ), рекомендуется использовать в практике хирургических отделений при лечении гнойных ран и гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы.

6. Материалы исследования рекомендуется использовать при преподавании хирургии студентам медицинских вузов и слушателям БелМАПО (Синдром диабетической стопы: метод. рекомендации, сост. Г.Г. Кондратенко, И.Н. Игнатович, А.П. Василевич, А.А. Безводицкая, Минск, 2006).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах

1. Синдром диабетической стопы – актуальность проблемы сохраняется / С.И. Леонович, Г.Г. Кондратенко, А.А. Безводицкая, Д.А. Таганович // Белорусский медицинский журнал. – 2003. – № 1. – С. 8–11.
2. Безводицкая, А.А. Местное лечение гнойных ран с применением мази «Процелан» / А.А. Безводицкая, Г.Г. Кондратенко // Военная медицина. – 2007. – № 2. – С. 42–45.
3. Безводицкая, А.А. Теоретическое, экспериментальное и клиническое обоснование применения мази «Процелан» в гнойной хирургии / А.А. Безводицкая // Рецепт. – 2007. – № 5. – С. 127–133.
4. Обоснование и экспериментальное применение мази «Процелан» при лечении гнойных ран / А.А. Безводицкая, Г.Г. Кондратенко, Т.А. Летковская, Л.В. Половинкин // Медицинский журнал. – 2007. – № 2. – С. 15–17.

Статьи в материалах конференций и тезисы докладов

5. Сравнительная оценка эффективности различных методов в комплексном лечении синдрома диабетической стопы / А.Л. Васильев, И.Г. Ляндрес, Л.Л. Горбачев, А.А. Безводицкая // Актуальные проблемы клинической медицины: сб. тр. – Минск, 1999. – С. 19–21.
6. Безводицкая, А.А. Совершенствование местного лечения гнойно-некротических процессов при синдроме диабетической стопы / А.А. Безводицкая, Г.Г. Кондратенко // Актуальные вопросы гнойно-септической и панкреато-билиарной хирургии: материалы XXIV Пленума Правления Ассоц. белорус. хирургов / под ред. проф. С.И. Леоновича. – Минск, 2004. – С. 112.
7. Безводицкая, А.А. Местное лечение гнойно-некротических ран препаратом «Процелан» / А.А. Безводицкая, Г.Г. Кондратенко, М.С. Кривеня // Актуальные вопросы гнойно-септической хирургии: сб. науч. тр. II Всерос. конф., 24–25 мая 2005г., г. Красноярск. – Красноярск 2005. – С. 181–183.
8. Безводицкая, А.А. Применение салфеток «Процелан» в местном лечении гнойно-некротических ран / Безводицкая А.А. // Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения. Новые направления в медицине: материалы всеармейской междунар. конф. – Минск, 2005. – С. 30–32.
9. Безводицкая, А.А. Местное лечение гнойно-некротических процессов при синдроме диабетической стопы с применением современных технологий / А.А. Безводицкая, Г.Г. Кондратенко // Проблемы хирургии в современных

условиях: материалы 13 съезда хирургов Республики Беларусь. – Гомель, 2006. – Т. 1.– С. 43–44.

10. Безводицкая, А.А. Местное лечение препаратом «Процелан» гнойно-некротических процессов при синдроме диабетической стопы / А.А. Безводицкая // Проблемы хирургии в современных условиях: материалы XIII съезда хирургов Республики Беларусь. – Гомель, 2006. – Т. 1.– С. 44.

11. Безводицкая, А.А. Теоретическое обоснование и использование аминокислоты L-пролин при местном лечении гнойных ран / А.А. Безводицкая, Г.Г. Кондратенко // Аминокислоты: от эксперимента к клинике: сб. тр. респ. конф. – Минск, 2007. – С. 16–19.

Методические рекомендации

12. Синдром диабетической стопы: метод. рекомендации / сост. Г.Г. Кондратенко, И.Н. Игнатович, А.П. Василевич, А.А. Безводицкая. – Минск, 2006. – С. 20.

РЭЗІЮМЭ

Безвадзіцкая Антаніна Аляксееўна

**Удасканаленне метадаў лячэння гнойна-запаленчых ускладненняў
дыябетычнай ступні
(эксперыментальна-клінічнае даследаванне)**

Ключавыя словы: сіндром дыябетычнай ступні, гнойна-запаленчыя ўскладненні, мясцовае лячэнне, язва, халадаплазменны пучок, лячэбная эфектыўнасць, мазь «Працэлан».

Аб'ект даследавання: 2076 хворых з гнойна-запаленчымі ўскладненнямі сіндрому дыябетычнай ступні, 49 жывёл з мадэллю гнойнай раны.

Прадмет даследавання: раневы працэс, сістэмныя паказчыкі, біяпсічны матэрыял.

Мэта работы: палепшыць вынікі лячэння хворых з гнойна-запаленчымі ўскладненнямі сіндрому дыябетычнай ступні шляхам распрацоўкі і ўкаранення ў лячэбны комплекс новых больш эфектыўных сродкаў і метадаў мясцовага ўздзеяння.

Метады даследавання: эксперыментальныя, клінічныя, лабараторныя, біяхімічныя, бактэрыялагічныя, марфалагічныя, імунагістахімічныя, статыстычныя.

Вынікі даследавання і іх навізна. Выяўлены тэндэнцыі ў частаце развіцця і структуры гнойна-запаленчых ускладненняў сіндрому дыябетычнай ступні, вывучаны асаблівасці прымененага лячэбнага комплексу і вызначаны шляхі яго ўдасканалення. Эксперыментальна і клінічна абгрунтавана прымяненне новых сродкаў і метадаў лячэбнага ўздзеяння пры дадзенай паталогіі.

Устаноўлена высокая лячэбная эфектыўнасць халадаплазменнай каагуляцыі, салфетак і мазі «Працэлан» пры мясцовым прымяненні. «Працэлан» не выклікае адмоўных сістэмных змен, эфектыўна купіруе гнойна-запаленчыя працэсы, паскарае працэсы рэпаратыўнай рэгенерацыі і гаенне інфіцыраваных дэфектаў скураных пакроваў.

Комплекснае лячэнне гнойна-запаленчых ускладненняў сіндрому дыябетычнай ступні, якое ўключае выкарыстанне новых сродкаў і метадаў мясцовага ўздзеяння, спрыяе палепшэнню вынікаў са зніжэннем сярэдняй працягласці знаходжання хворых у стацыянары (з 22,9 койка-дзён да 19,3 койка-дзён) і агульнай смяротнасці з 2,1% да 1,5%.

Галіна прымянення: хірургія.

РЕЗЮМЕ

Безводицкая Антонина Алексеевна

Совершенствование методов лечения гнойно-воспалительных осложнений диабетической стопы (экспериментально-клиническое исследование)

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, гнойно-воспалительные осложнения, местное лечение, язва, холодоплазменный пучок, лечебная эффективность, мазь «Процелан».

Объект исследования: 2076 больных с гнойно-воспалительными осложнениями синдрома диабетической стопы, 49 животных с моделью гнойной раны.

Предмет исследования: раневой процесс, системные показатели, биопсийный материал.

Цель работы: улучшить результаты лечения больных с гнойно-воспалительными осложнениями синдрома диабетической стопы путем разработки и внедрения в лечебный комплекс новых более эффективных средств и методов местного воздействия.

Методы исследования: экспериментальные, клинические, лабораторные, биохимические, бактериологические, морфологические, иммуногистохимические, статистические.

Результаты исследования и их новизна. Выявлены тенденции в частоте развития и структуре гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы, изучены особенности применявшегося лечебного комплекса и определены пути его совершенствования. Экспериментально и клинически обосновано применение новых средств и методов лечебного воздействия при данной патологии.

Установлена высокая лечебная эффективность холодоплазменной коагуляции, салфеток и мази «Процелан» при местном применении. «Процелан» не вызывает отрицательных системных изменений, эффективно купирует гнойно-воспалительные процессы, ускоряет процессы репаративной регенерации и заживление инфицированных дефектов кожных покровов.

Комплексное лечение гнойно-воспалительных осложнений синдрома диабетической стопы, включающее использование новых средств и методов местного воздействия, способствует улучшению результатов со снижением средней продолжительности пребывания больных в стационаре (с 22,9 койко-дней до 19,3 койко-дней) и общей летальности с 2,1% до 1,5%.

Область применения: хирургия.

SUMMARY

Bezvoditskaja Antonina Alekseevna
Perfection of methods of treatment of pyoinflammatory complications
of a diabetic foot
(experimental and clinical study)

Key words: a syndrome of diabetic foot, pyoinflammatory complications, local treatment, an ulcer, a bunch of cold plasma, medical efficiency, the ointment «Procelan».

Object of research: 2076 patients with pyoinflammatory complications of a syndrome of a diabetic foot, 49 animals with a model of a festering wound.

Subject of research: a wound process, systemic indices, biopsi tissue.

Purpose of work: to improve the results of treatment of patients with pyoinflammatory complications of a syndrome of a diabetic foot by developing and introducing new more effective remedies and methods of the local influence into the medical complex.

Methods of research: experimental, clinical, laboratory, biochemical, bacteriological, morphological, immunohistochemical, statistical.

Results of research and their novelty. The tendencies to the frequency of the development and the structure of pyoinflammatory complications of a syndrome of a diabetic foot have been revealed. The peculiarities of the medical complex applied have been studied and the ways of its perfection have been defined. The application of new remedies and methods of the medical influence on this pathology has been substantiated clinically and experimentally.

The high medical efficiency of the cold plasma coagulation, napkins and the ointment «Procelan» for the local application has been established. «Procelan» doesn't cause negative systemic changes and stops pyoinflammatory processes effectively, accelerates the process of the reparation regeneration and the healing of the infected defects of the integument.

The complex treatment of pyoinflammatory complications of a syndrome of a diabetic foot including the usage of new remedies and methods of the local influence promotes improving the results reducing the average duration of a patients' stay in a hospital (from 22,9 days to 19,3 days) and the general mortality from 2,1% to 1,5%.

Field of application: surgery.