

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»**

УДК 616-001.4-002.3-089:615.28:615.355

БЛЕДНОВ

Алексей Валентинович

**ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ ФЕРМЕНТЫ И
АНТИСЕПТИКИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ
ГНОЙНЫХ РАН**

(Клинико-экспериментальное исследование)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.00.27. – хирургия

Минск, 2007

Работа выполнена в УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель: Косинец Александр Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Республики Беларусь, заместитель премьер-министра Республики Беларусь.

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

Дубровщик Ольга Ильинична, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой общей хирургии УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: УО «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 21 декабря 2007 года в 13 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.05 при УО «Белорусский государственный медицинский университет» (220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел. 272-55-98).

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

Автореферат разослан 19 ноября 2007 года.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук,
доцент



Ластовка А.С.

ВВЕДЕНИЕ

Раневая инфекция является основным видом осложнений в хирургии, она приобрела особое значение в связи с увеличением частоты гнойных заболеваний и послеоперационных нагноений, которая составляет 23-60% [А.Н. Косинец, Ю.В. Стручков, 2004].

Местные методы лечения и адекватные способы перевязки занимают очень важное место в системе комплексного воздействия на течение раневого процесса. В исследовании Георга Винтера, опубликованном в 1962 году, было доказано, что заживление под перевязочным материалом происходит в два раза быстрее, чем при открытой ране [G.D. Winter, 1995]. Существенным недостатком широко применяемых в настоящее время препаратов для местного лечения гнойных ран является однонаправленность их действия: только некролитическое – протеолитические ферменты; только антимикробное – растворы хлоргексидина, диоксида и др.; только дегидратирующее – гипертонический раствор хлорида натрия [А.Н. Косинец, 2004].

Повязка должна отвечать целому ряду требований и обладать очищающим действием, а именно способствовать лизису некротических тканей, эвакуировать отделяемое из раны, эффективно подавлять раневую инфекцию и стимулировать репаративные процессы [A. Basil et al, 1978].

Чрезвычайно перспективным для ускорения очищения ран является использование протеолитических ферментов, а для борьбы с раневой инфекцией — эффективных антисептиков. Однако в раневой среде ферменты быстро теряют устойчивость, период их эффективного действия составляет всего 20-40 минут. Используемые методы перевязок не позволяют длительно поддерживать эффективную концентрацию антисептиков (влажно-высыхающие повязки) [М.И. Кузин, Б.М. Костюченко, 1990].

Решением данной проблемы может явиться разработка новых форм активных препаратов – иммобилизация на носителе с длительным высвобождением в рану [В.Н. Филатов, 2002].

Таким образом, необходимо дальнейшее изучение этиологии и патогенеза, причин и условий, способствующих развитию раневой инфекции и определяющих исход репаративных процессов. Разработка иммобилизованных форм ферментов и антисептиков позволит создать новые эффективные перевязочные средства, обладающие одновременно сорбционными, протеолитическими и антисептическими свойствами. Применение данных средств приведет к сокращению длительности очищения раны, позволит в более ранние сроки производить пластическое закрытие ран, сократить длительность госпитализации.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами, темами

Диссертационная работа выполнена по плану научных исследований Витебского государственного медицинского университета и Государственной научно-технической программы «Лечебные и диагностические технологии», раздел 02 «Хирургия», тема задания «Комплексная система диагностики, профилактики и лечения гнойно-воспалительных осложнений в хирургии», № госрегистрации 19994043, регистрация 5.11.1999 (научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор А.Н. Косинец).

Цель и задачи исследования

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: оптимизация лечения гнойных ран путем разработки и применения нового комбинированного перевязочного средства, обладающего сорбционными, протеолитическими и антимикробными свойствами.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ:

1. Изучить частоту поражений, характер раневого процесса, а также влияние аэробной и анаэробной микрофлоры на его течение у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей.
2. Разработать новые комбинированные перевязочные средства, которые сочетают сорбционные, протеолитические и антимикробные свойства.
3. Провести доклинические испытания комбинированных перевязочных средств в эксперименте.
4. Провести клинические испытания новых комбинированных перевязочных средств.

Объект исследования: 230 больных гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей. Экспериментальные исследования проведены на 70 беспородных крысах. Клинические испытания проведены на 120 пациентах с гнойными ранами и трофическими язвами (на базе хирургических отделений Витебской, Гродненской и Минской областных клинических больниц).

Предмет исследования: этиология, характер течения и исходы раневого процесса, методы лечения больных с гнойными ранами.

Методологической базой исследования является концепция комплексного патогенетического подхода к лечению больных с гнойными ранами. Применены клинические, экспериментальные, микробиологические, биохимические, гистологические и статистические методы.

Положения, выносимые на защиту

1. В подавляющем количестве случаев причиной гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей является аэробно-анаэробная микробная ассоциация (87,1%). В сложившейся структуре заболеваемости основная роль принадлежит стафилококкам, энтеробактериям и синегнойной палочке, а также бактероидам и пептококкам. Эффективным антисептиком для лечения раневой инфекции, является диоксидин (92,54±4,56%). Длительность очищения гнойных ран у больных при использовании методов местного лечения, не включающих протеолитические ферменты, составляет от 10 до 15,2 суток. Применение обычных форм протеолитических ферментов позволяет сократить длительность фазы воспаления на 1,5-2 дня ($p < 0,01$).

2. Впервые установлено, что включение активных веществ в ячейки геля редкосшитых полиакрилатов и их сополимеров является эффективным способом иммобилизации протеолитических ферментов и антисептиков и обеспечивает длительное высвобождение (пролонгацию) и структурную сохранность веществ (стабилизацию). Данный метод иммобилизации обеспечивает сохранение на носителе 95,3±2,6% исходной активности трипсина и 96,2±6,8% активности диоксидина. При хранении образцов в течение года сохраняется 96,7±3,6% активности трипсина и 91,89±5,4% активности диоксидина. Разработаны новые комбинированные перевязочные средства «Комбиксин» и «Диосепт», в которых иммобилизованная форма трипсина обеспечивает сохранение протеолитической активности в ране более 24 часов, а иммобилизованная форма диоксидина обеспечивает выделение антисептика в раневую среду в течение 24 часов и эффективно подавляет раневую инфекцию.

3. Применение новых комбинированных перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт», обладающих одновременно протеолитическим, сорбционным и антисептическим действием, сокращают длительность фазы воспаления и ускоряют заживление раны на 7,5 дней в эксперименте на животных ($p < 0,01$).

4. Разработанный впервые новый комплексный метод лечения ран, основанный на применении активной хирургической тактики и местного лечения, соответствующего фазам раневого процесса, когда в первую и вторую фазы раневого процесса используется перевязочное средство «Комбиксин», во вторую и третью фазы — «Диосепт», позволяет сократить сроки очищения гнойных ран в клинике на 6,63 суток (с 10,70±2,94 до 4,07±1,70 суток; $p = 1,03 \times 10^{-11}$). Сроки очищения язвенной поверхности при лечении трофических язв сокращаются на 7,23 суток (с 14,23±4,86 до 6,93±2,70 суток; $p = 9,37 \times 10^{-08}$). Применение новых перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт» позволяет

сократить сроки подготовки гнойных ран к пластическому закрытию на 7,2 дня или в 2,36 раза (с $12,47 \pm 3,41$ до $5,27 \pm 1,70$ суток; $p=2,82 \times 10^{-11}$).

Личный вклад соискателя

Цель и задачи сформулированы соискателем совместно с научным руководителем, профессором А.Н. Косинцем. В соответствии с поставленными задачами все результаты, содержащиеся в диссертации и послужившие основой для выдвинутых научных положений и выводов, получены лично. Автором самостоятельно проведены клинические, микробиологические, иммунологические и биохимические исследования у больных. Разработана лабораторная техника и метод иммобилизации протеолитических ферментов и антисептиков совместно с доц. кафедры токсической и аналитической химии Н.А. Алексеевым. Соискателем выполнены экспериментальные исследования на лабораторных животных и проведено доклиническое испытание эффективности перевязочных средств. Совместно со специалистами РУП «Борисовский завод медпрепаратов» разработана технология промышленного производства перевязочных средств, а также техническая документация для государственной регистрации новых перевязочных средств. Лично разработана программа клинических испытаний. На базе УО «ВОКБ» автором выполнено клиническое испытание перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт». Написание всех разделов диссертации, анализ и интерпретация, статистическая обработка полученных данных, оформление работы выполнено лично автором.

Апробация результатов диссертации

Результаты исследований и основные положения диссертации доложены и обсуждены на международной научно-практической конференции «Студенческая наука 21 века» (Витебск, 2002), на юбилейной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ЦНИЛ и 55-летию СНО ВГМУ (Витебск, 2003); на 55-й итоговой научно-практической конференции ВГМУ (Витебск, 2003); на 59 научной сессии Витебского государственного медицинского университета (Витебск, 2004); на научно-практических конференциях областного общества хирургов (Витебск 2004, 2007); на 7-м съезде провизоров и фармацевтов РБ (Витебск, 2004); на 61 научной сессии ВГМУ (Витебск, 2006); на 59 итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Витебск, 2007).

Опубликованность результатов

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, среди них: 4 статьи в рецензируемых научных журналах (2,84 авторских листа), 2 статьи в сборниках научных трудов, 7 тезисов и материалов научных конференций, сессий (1,21 авторских листа). Получено 2 патента на изобретения. Разработаны технические условия на производство перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт» (ТУ ВУ 600125834.015-2007 и ТУ ВУ 600125834.014-2007). Разработана и утверждена программа клинических испытаний перевязочных средств. Количество работ без соавторов – 9. Общий объем опубликованных материалов составил 4,05 авторских листа (в т.ч. единолично – 3,3).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 112 страницах машинописного текста и состоит из оглавления, введения, общей характеристики работы, 5 глав, заключения, практических рекомендаций, списка использованных источников, включающего 194 источника (из них 135 русскоязычных и 59 иностранных), списка публикаций соискателя по теме диссертации — 15 работ, трех приложений. Работа содержит 35 таблиц и 33 рисунка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Исследовали течение раневого процесса и заживление ран у 230 больных с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей. После этого провели мультицентровое рандомизированное клиническое испытание разработанных нами новых комбинированных перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт». Исследования проводились в соответствии с программой медицинских испытаний № 7313-7314 от «28» ноября 2006 г., утвержденной министерством здравоохранения Республики Беларусь 23.01.07. В основную группу вошло 60 пациентов, пролеченных на базе хирургических отделений Витебской, Гродненской и Минской областной клинической больницы. Контрольная рандомизированная группа (60 пациентов) была сформирована в соответствии с программой клинических испытаний в этих же отделениях.

Исследование было проведено по протоколу простого рандомизированного клинического испытания на 4 параллельных группах пациентов с позитивным контролем. Рандомизация выполнялась методом

игральных костей, при выпадении четного значения больного относили к опытной группе, нечетного – к контрольной. Больные участвовали в испытании при соответствии всем критериям включения и отсутствии критериев исключения. Полученные результаты применения в клинике новых комбинированных перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт» сравнивали с результатами лечения контрольной группы. Различия в группах касались только методов местного лечения. В контрольной группе применяли традиционное местное лечение. Всем больным проводились в равном объеме: обследование, антибиотикотерапия и хирургическое лечение (вскрытие гнойников, дренирование; иссечение нежизнеспособных тканей; пластическое закрытие ран). Основная и контрольная группы статистически значимо не отличались по полу, возрасту ($p=0,98$), наличию сопутствующих заболеваний, размерам раневых дефектов (посттравматические раны $52,4 \pm 27,1$ и $41,8 \pm 21,7$ см², $p=0,3466$; язвы $51,2 \pm 44,4$ и $53,5 \pm 50,6$ см², $p=0,9151$).

Эффективности лечения оценивали стандартными методами. Использовали стандартизированные микробиологические методы для идентификации бактерий и определение их чувствительности к антибиотикам с помощью тест-систем на автоматизированном биохимическом анализаторе АТВ Expression фирмы «bioMerieux».

Модель инфицированной раны у крыс создавалась в области правой лопатки на площади 2 см²: иссекался кожный лоскут, края и дно кожной раны подвергали размозжению при помощи зажима Кохера. Рану инфицировали взвесью микроорганизмов 10^9 КОЕ/мл, подготовленной из суточной культуры *S. aureus* штамм АТСС 25923 и *B. fragilis* штамм 25323 по стандарту мутности. В динамике (на 1, 3, 5, 7, 10, 15 и 25-е сутки) у всех животных были проведены гистологические исследования тканей регенерата.

Статистическая обработка данных проведена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к исследованиям в области медицины с использованием электронных пакетов анализа «Excel» и «STATISTICA 6.0».

Результаты исследования

Изучение характера течения раневого процесса и влияние на него аэробной и анаэробной микрофлоры

Наиболее частой локализацией гнойно-воспалительных процессов являлись верхние и нижние конечности (36,8% и 41% соответственно). В подавляющем количестве случаев причиной гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей являлась аэробно-анаэробная микробная ассоциация (87,1% случаев).

В сложившейся структуре гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей основная роль принадлежит стафилококку, энтеробактериям и синегнойной палочке, а также бактероидам и пептококкам (рисунок 1).

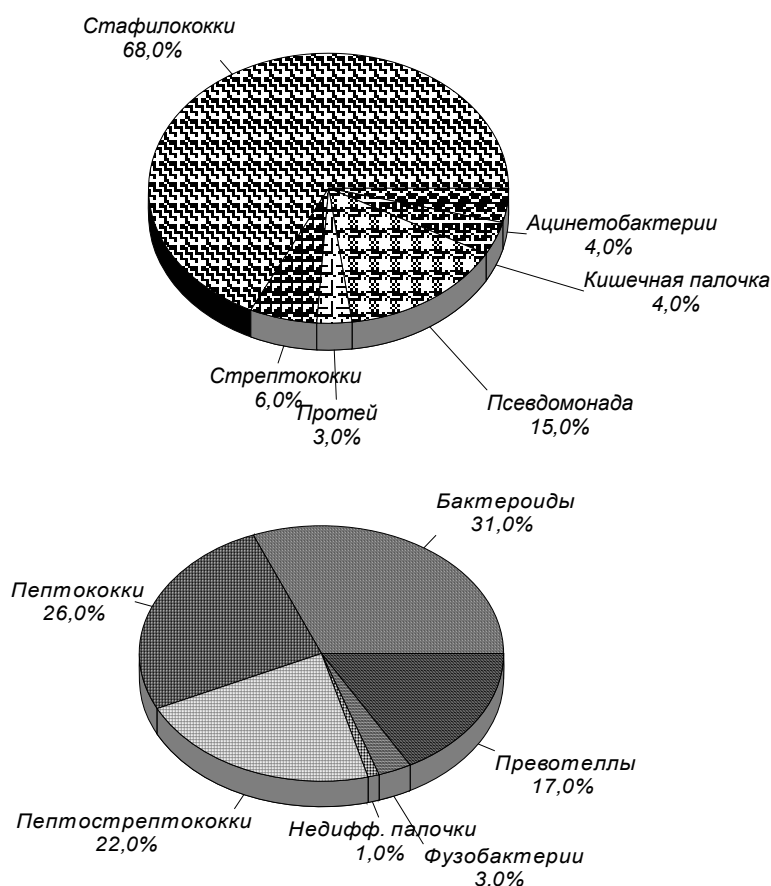


Рисунок 1 - Видовой состав аэробных и анаэробных микроорганизмов, выделенных у больных с раневой инфекцией

В период 2002-2006 гг. происходит снижение чувствительности штаммов микроорганизмов ко всем группам клинически значимых антибиотиков (аминогликозидам: амикацин с 85,2 до 72,1% для стафилококков; цефалоспорином: цефазолин с 95 до 62,3%; фторхинолоном: ципрофлоксацин с 85 до 65,6%; карбапенемам; линкозаноидам). Чувствительность изученных штаммов микроорганизмов к 1% раствору диоксида остается высокой и составляет $92,54 \pm 4,56\%$.

Длительность очищения гнойных ран у больных при использовании методов местного лечения, не включающих протеолитические ферменты, составляет от 10 до 15,2 суток. Применение обычных форм протеолитических ферментов позволяет сократить длительность фазы воспаления на 1,5-2 дня (посттравматические раны: с $13,2 \pm 1,4$ до $11,2 \pm 1,0$ суток; абсцессы: с $10 \pm 0,8$ до $8,5 \pm 0,7$; флегмоны: с $15 \pm 1,5$ до $13 \pm 1,2$). Однако, по-прежнему, сохраняются длительные сроки очищения ран, что связано с быстрой инактивацией ферментов в ране. Применение иммобилизованных форм протеолитических

ферментов позволит повысить их устойчивость в раневой среде и сократить сроки лечения больных.

Множественная лекарственная устойчивость основных возбудителей при распространенных гнойных процессах и осложненной травме определяет необходимость комбинированного применения антибактериальных препаратов и протеолитических ферментов с целью лечения смешанной аэробно-анаэробной инфекции и эффективной борьбы с госпитальными штаммами. Эффективным антисептиком для лечения раневой инфекции, обусловленной основными возбудителями, является диоксидин. Разработка иммобилизованных форм диоксидина и протеолитического фермента позволят длительно высвобождать в раневую среду активные компоненты и улучшить результаты лечения больных с гнойными ранами.

Разработка новых комбинированных перевязочных средств

Проведенные лабораторные тесты позволили разработать технологию производства перевязочных средств и иммобилизации лекарственных препаратов. В качестве основы для иммобилизации выбрано сетчатое трикотажное медицинское полотно с полиакрилатным комплексом, которое обладает выраженными сорбционными свойствами и позволяет более 24 часов удалять раневое отделяемое.

Иммобилизацию трипсина и диоксидина производили методом включения веществ в ячейки геля редкосшитых полиакрилатов и их сополимеров. Этот метод обеспечивал сохранение $95,3 \pm 2,6\%$ от активности наносимого препарата на носителе. Диоксидин сохранял после иммобилизации $96,2 \pm 6,8\%$ своей активности. При хранении образцов в течение года сохраняется $96,7 \pm 3,6\%$ активности трипсина и $91,89 \pm 5,4\%$ активности диоксидина. Свойства созданных образцов перевязочных средств исследовали в моделях раневого процесса: забор образцов из реактора в течение суток и исследование образцов при полной смене раневой среды. Установлена пролонгация действия трипсина, постепенное высвобождение в течение суток.

Исследована чувствительность клинических изолятов (89 штаммов) микроорганизмов к диоксидину и определена минимальная подавляющая концентрация в раневой среде (312,5 мкг/мл). Исследованы особенности высвобождения диоксидина в водную среду, установлено торможение десорбции диоксидина с увеличением ионной силы растворов. Для изготовления комбинированных перевязочных средств решено использовать 5% концентрацию диоксидина.

При исследовании антимикробных свойств иммобилизованной формы диоксида методом диффузии в агар на плотной питательной среде установлено сохранение свойств препарата (содержание диоксида в повязке соответствует $4,81 \pm 0,34\%$) и высокая эффективность при подавлении роста микроорганизмов.

Разработанный лекарственный комплекс не обладал токсическими и аллергенными свойствами при испытаниях на лабораторных крысах.

Установлено, что иммобилизация методом включения в ячейки геля позволяет обеспечить сохранение активности лекарственных средств (протеолитической активности трипсина и антибактериальной активности диоксида). Созданы новые перевязочные средства, которые обладают сорбционным, протеолитическим и антисептическим действиями. Разработано перевязочное средство с иммобилизованной формой диоксида — «Диосепт», трипсином и диоксином — «Комбиксин».

Доклинические испытания комбинированных перевязочных средств в эксперименте на животных.

Доклинические испытания новых комбинированных перевязочных средств «Диосепт» и «Комбиксин» проведены в сравнительном аспекте с традиционными однокомпонентными способами лечения гипертоническим раствором, кристаллическим трипсином, средством для лечения ран «Диотевин», обладающее сорбционным, антимикробным и протеолитическим действием (диоксин и террилин). В первой группе (без лечения) полная эпителизация происходила на 18-20 сутки после нанесения раны. Длительное время происходило очищение раны от гнойно-некротических масс (12-14 суток). Часто формировались втянутые или грубые рубцы.

У животных 2-3 групп (гипертонический раствор натрия хлорида и трипсин в дозе 5 мг) длительное время происходило очищение ран, формировался гнойный струп, под которым скапливалось большое количество гнойного отделяемого, происходил некроз мягких тканей. Заживление ран в этих группах протекало медленно и завершалось к 15-16 суткам формированием грубого плотного втянутого рубца, часто с вовлечением подлежащих мышц в фиброзный процесс.

Воспалительная реакция вокруг гнойного очага у животных 4-6 групп («Диотевин», «Диосепт» и «Комбиксин») была выражена в значительно меньшей степени, а отделяемое из раны было скудным. Заживление ран наступало к 8-10 дню наблюдения, при этом формирование рубцовой ткани было выражено умеренно, ткань рубца мягкая, сливающаяся с кожными

структурами. Установлено сокращение фаз раневого процесса и ускорение заживления ран в 4-6 группах (рисунок 2).

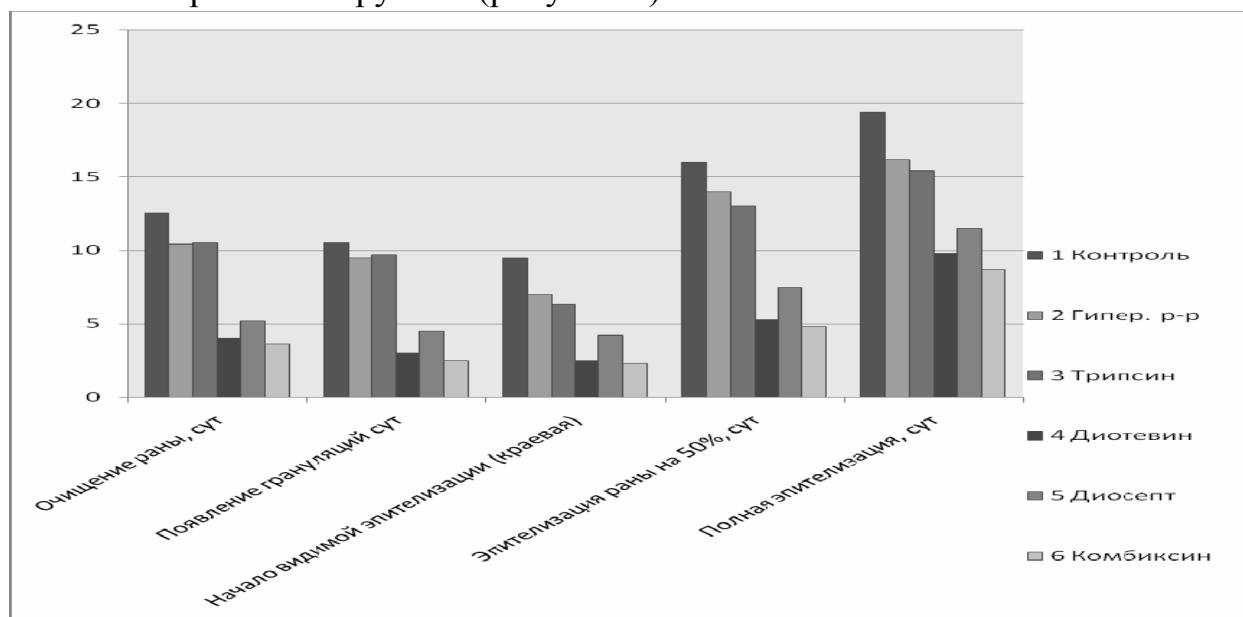


Рисунок 2 - Результаты санации и заживления кожной раны в группах животных

Эффективность новых перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт» статистически достоверно ($p < 0,01$) отличается от традиционных методов лечения. Применение этих средств обеспечивает более быструю санацию и заживление кожных ран, полученных в эксперименте на животных. По сравнению с традиционными методами лечения отмечается сокращение сроков очищения раны (с $10,4 \pm 1,2$ до $3,6 \pm 0,3$ суток), появления грануляционной ткани (с $9,5 \pm 1,1$ до $2,5 \pm 0,3$ суток), краевой эпителизации (с $7,0 \pm 0,8$ до $2,3 \pm 0,2$ суток), заживления раны (с $16,2 \pm 1,8$ до $8,7 \pm 0,9$ суток). Происходит гистотипическое формирование рубца.

При гистологическом исследовании тканей регенерата в 5-6 группах животных наблюдалось значительное ускорение процессов заживления кожной раны. Это выражалось в ускорении смены фаз воспалительной реакции, в более быстром формировании, созревании и организации грануляционной ткани, ее рубцевании, а также в более интенсивной эпителизации раневой поверхности. Наиболее отчетливо эти явления проявлялись в 6 группе, где уже к 9-10-м суткам раневого процесса отмечалась полная организация грануляционной ткани в рубцовую ткань и практически завершалась эпителизация раневой поверхности. Основной причиной таких различий в протекании раневого процесса, несомненно, является отсутствие выраженного гнойного очага и ускорение очищения гнойной раны. Это свидетельствует о сокращении 1 фазы раневого процесса при применении комбинированных перевязочных средств. Таким образом, проведенные доклинические испытания на животных подтвердили эффективность комплексного лечения ран с применением

комбинированных перевязочных средств, содержащих иммобилизованные формы диоксидина и трипсина.

Клинические испытания новых комбинированных перевязочных средств

Проводили рандомизированные мультицентровые испытания новых перевязочных средств, которые обладают антисептическими, протеолитическими (Комбиксин) и сорбционными свойствами. Их применение в эксперименте на животных позволяло ускорить очищение и заживление гнойных ран. Два препарата являются взаимосвязанными этапами комплексного лечения ран в соответствии с фазами раневого процесса. Для некролиза и ферментативной очистки раны в фазу очищения используется «Комбиксин», для 2-3 фазы раневого процесса применяется «Диосепт» (таблица 1).

Таблица 1 - Характеристика групп клинических испытаний

Нозология	Группы	1 фаза	2-3 фазы	N	M	Ж	Возраст
Посттравматические инфицированные раны	1 основная	комбиксин	диосепт	30	16	14	46,83±16,52
	2 контроль	рекомен. лечение	рекомен. лечение	30	20	10	45,67±14,56
Трофические язвы	3 основная	комбиксин	диосепт	30	12	18	58,03±12,10
	4 контроль	рекомен. лечение	рекомен. лечение	30	13	17	59,27±10,93

Распределение субъектов в группах по нозологическим формам, тяжести и продолжительности заболевания, сопутствующей патологии, размерам раневых дефектов статистически значимо не отличалось.

Эффективность лечения и динамика местного лечения оценивалась по длительности фаз раневого процесса. Сроки наступления 1-2 фаз раневого процесса при лечении гнойно-некротических ран приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты лечения гнойных ран ($M \pm \sigma$)

Группа	Очищение раны, сут	Появление грануляций, сут	Начало видимой эпителизации (краевая)	Готовность раны к пластическому закрытию
Основная	4,07±1,70	2,73±0,64	4,20±0,96	5,27±1,70
Контроль	10,70±2,94	6,97±2,24	9,33±2,22	12,47±3,41
P	$1,03 \times 10^{-11}$	$5,44 \times 10^{-11}$	$1,05 \times 10^{-12}$	$2,82 \times 10^{-11}$

Таким образом, в опытной группе на 6,63 суток сокращалась длительность фазы очищения, отмечалось более раннее появление грануляций (на 4,24 сут), создавались условия для сокращения сроков регенерации эпителия (на 5,13 суток), подготовка к пластическому закрытию достигалась на

7,2 дня раньше или в 2,36 раза быстрее. Очистение и подготовка язв к пластическому закрытию потребовало значительно большее количество времени (таблица 3).

Таблица 3 - Результаты лечения трофических язв ($M \pm \sigma$)

Группа	Очищение раны, сут	Появление грануляций, сут	Начало видимой эпителизации (краевая)	Готовность раны к пластическому закрытию
Основная	6,93±2,70	3,53±0,97	5,67±1,60	8,53±2,91
Контроль*	14,23±4,86	6,37±1,77	8,73±2,00	15,10±4,79
P	$9,37 \times 10^{-08}$	$1,24 \times 10^{-08}$	$2,5 \times 10^{-07}$	$4,64 \times 10^{-07}$

При лечении трофических язв применение перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт» позволяет значительно ускорить очищение раны, которое наступает на 7,23 суток раньше, чем в контрольной группе. На 2,84 суток раньше появляются грануляции, готовность раны к пластике достигается на 6,57 дней раньше или 1,77 раза быстрее.

Кроме длительности фаз раневого процесса также исследовалась динамика клинической симптоматики. Она оценивалась по нескольким шкалам: - субъективная: улучшение самочувствия в процессе лечения (оценивал пациент по 5 бальной шкале); - наличие болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале (оценивал пациент); - объективная: (наличие отека, гиперемии, отделяемого) оценивал врач по 10-балльной шкале. Меньшему количеству баллов соответствовало более выраженные проявления.

При лечении ран было установлено, что в опытной группе быстро происходило купирование воспалительных явлений, уменьшение отека, болей. Больные субъективно отмечали улучшение самочувствия (рисунок 3).

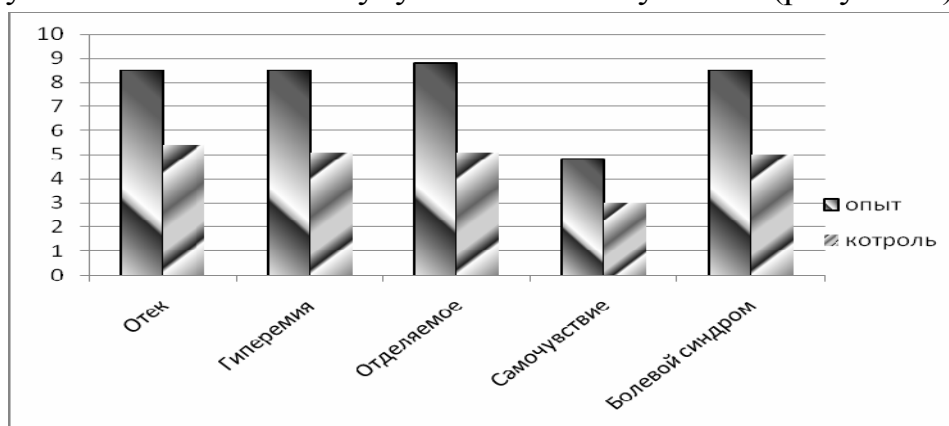


Рисунок 3 – Клинические проявления раневого процесса на 5-е сутки при лечении ран

При лечении трофических язв различия в протекании процесса установлены в сроках 5 и 10 суток. В эти сроки больные опытной группы отмечали значительное улучшение самочувствия, уменьшался отек, количество отделяемого из язв (рисунок 4).

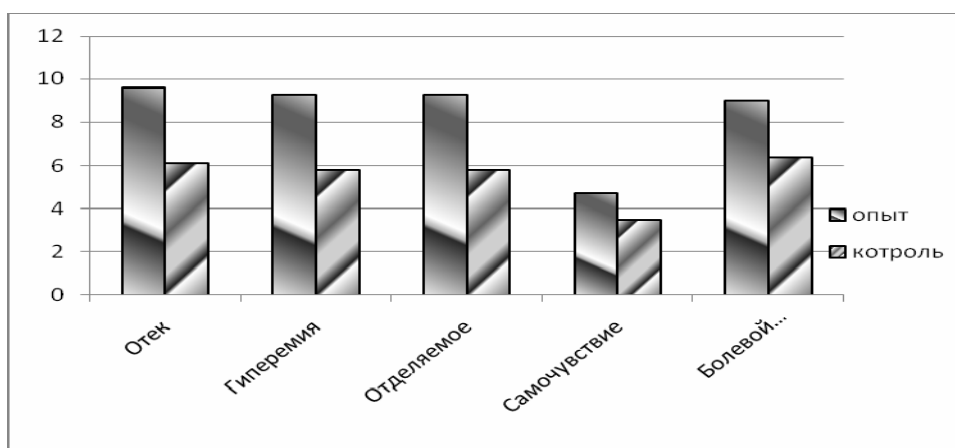


Рисунок 4 – Клинические проявления раневого процесса на 10-е сутки при лечении трофических язв

В основной группе по сравнению с контрольной статистически достоверно ($p < 0,0001$) раньше наступало субъективное улучшение самочувствия и купирование воспалительных явлений, подавление раневой инфекции. При применении комбинированных средств «Комбиксин» и «Диосепт» побочных реакций и непереносимости не выявлено, противопоказаний к применению не установлено.

Оценка эффективности применяемого метода лечения одного больного проводили по формуле $\mathcal{E} = (K + N + B) \times D$, где: К – стоимость 1 койко-дня (для больных с хирургической инфекцией 72 тыс. рублей); Н – произведенный национальный продукт на одного человека за 1 день: национальный продукт (79231400 млн. руб в 2006 г), деленный на количество работающих (70,97 тыс. бел. рублей); Б – выплаты по больничным листам за 1 день (20,4 тыс. руб.); Д – количество койко-дней, сократившихся в результате лечения на одного больного (7 дней).

$\mathcal{E} = (72 + 70,97 + 20,4) \times 7 = 1143,1$ тыс. бел. руб.

Экономический эффект от лечения 60 больных с применением новых перевязочных средств = $\mathcal{E} \times 60 = 68,586$ млн. руб.

Возможная экономия при применении данного метода в Республике Беларусь: $10000 \text{ больных} \times 1143,1 \text{ тыс. бел. руб.} = 11,43$ млрд.руб.

Таким образом, на основании проведенных клинических испытаний можно сделать вывод, что метод лечения ран и трофических язв, основанный на активной хирургической тактике, применении в 1-2 фазы раневого процесса иммобилизованных форм ферментов и антисептиков (Комбиксин), активным дренированием с использованием выпускников и сорбентов, применении в 2-3 фазах иммобилизованных форм антисептиков (Диосепт), раннем пластическом закрытии раневых дефектов является оптимальным. Он позволяет значительно сократить сроки госпитализации и уменьшить экономические затраты на лечение больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Наиболее частой локализацией гнойно-воспалительных процессов являются верхние и нижние конечности (36,8% и 41%). В подавляющем количестве случаев причиной гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей является аэробно-анаэробная микробная ассоциация (87,1%). В сложившейся структуре заболеваемости основная роль принадлежит стафилококку, энтеробактериям и синегнойной палочке, а также бактероидам и пептококкам. Происходит повышение устойчивости штаммов микроорганизмов ко всем группам клинически значимых антибиотиков (аминогликозидам: амикацин с 85,2 до 72,1% для стафилококков; цефалоспорином: цефазолин с 95 до 62,3%; фторхинолоном: цiproфлоксацин с 85 до 65,6%; карбапенемам; линкозаноидам). Эффективным антисептиком для лечения раневой инфекции, обусловленной основными возбудителями, является диоксидин (92,54±4,56%). Длительность очищения гнойных ран у больных, при использовании традиционных методов местного лечения, составляет от 10 до 15,2 суток. Применение обычных форм протеолитических ферментов позволяет сократить длительность фазы воспаления на 1,5-2 дня ($p < 0,01$) [9, 10].

2. Иммобилизация методом включения в ячейки геля позволяет обеспечить сохранение активности лекарственных средств (протеолитической активности трипсина и антибактериальной активности диоксида). Выбранные методы иммобилизации трипсина обеспечивали сохранение 95,3±2,6% исходной активности на носителе. Диоксидин сохранял после иммобилизации 96,2±6,8% своей активности. При хранении образцов в течение года сохраняется 96,7±3,6% активности трипсина и 91,89±5,4 % активности диоксида. Разработана технология лабораторного и промышленного производства перевязочных средств, которые обладают сорбционным, протеолитическим и антисептическим действиями. Созданы новые комбинированные перевязочные средства «Комбиксин» и «Диосепт», обладающие протеолитическим, сорбционным и антисептическим действием. В качестве основы используется сетчатое трикотажное медицинское полотно с полиакрилатным комплексом, которое обладает выраженными сорбционными свойствами и позволяет более 24 часов удалять раневое отделяемое. Иммобилизованная форма трипсина обеспечивает высвобождение (пролонгацию) и структурную сохранность фермента (стабилизацию) в течение суток [1, 3, 6, 14].

3. Доклинические испытания новых комбинированных перевязочных средств «Диосепт» и «Комбиксин» проведены в сравнительном аспекте с традиционными однокомпонентными способами лечения гипертоническим

раствором, кристаллическим трипсином, референтным аналогом других производителей. Установлено сокращение фаз раневого процесса и ускорение заживления ран. Эффективность новых перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт» статистически достоверно ($p < 0,01$) отличается от традиционных методов лечения и обеспечивает более быструю санацию и заживление кожных ран, полученных в эксперименте на животных. Отмечается сокращение сроков очищения раны (с $10,4 \pm 1,2$ до $3,6 \pm 0,3$ суток), появления грануляционной ткани (с $9,5 \pm 1,1$ до $2,5 \pm 0,3$ суток), краевой эпителизации (с $7,0 \pm 0,8$ до $2,3 \pm 0,2$ суток), заживления раны (с $16,2 \pm 1,8$ до $8,7 \pm 0,9$ суток) [7, 11].

4. В лечении гнойных ран обоснованным является комплексный подход, учитывающий фазу раневого процесса и системные сдвиги. Разработан и апробирован метод лечения ран и трофических язв, основанный на применении активной хирургической тактики и местного лечения, соответствующий фазам раневого процесса. В первую и вторую фазы раневого процесса используется средство «Комбиксин», обладающее протеолитическим, сорбционным, антисептическим, а также стимулирующим заживление действием. Во вторую и третью фазы используется перевязочное средство «Диосепт», которое обладает антисептическими и сорбционными свойствами. Применение данных средств наряду с активной хирургической тактикой и правильным ведением раны позволяет производить раннее пластическое закрытие раневых дефектов. Так, по сравнению с рандомизированной группой контроля, статистически достоверно сроки очищения гнойных ран сокращались на 6,63 суток (с $10,70 \pm 2,94$ до $4,07 \pm 1,70$ суток; $p = 1,03 \times 10^{-11}$). На 7,23 суток уменьшались сроки очищения язвенной поверхности при лечении трофических язв (с $14,23 \pm 4,86$ до $6,93 \pm 2,70$ суток; $p = 9,37 \times 10^{-08}$) [5, 12, 13].

5. Применение иммобилизованных форм трипсина и диоксидина позволяет в 2,36 раза (на 7,2 дня) сократить сроки подготовки ран к пластическому закрытию (с $12,47 \pm 3,41$ до $5,27 \pm 1,70$ суток; $p = 2,82 \times 10^{-11}$). Подготовка трофических язв к пластическому закрытию аутокожей сокращается на 6,57 дней в 1,77 раза (с $15,10 \pm 4,79$ до $8,53 \pm 2,91$ суток, $p = 4,64 \times 10^{-07}$). По сравнению с контрольной группой статистически достоверно ($p < 0,001$) раньше наступало субъективное улучшение самочувствия и купирование воспалительных явлений, подавление раневой инфекции. При применении комбинированных средств «Комбиксин» и «Диосепт» побочных реакций и непереносимости не выявлено, противопоказаний к применению не установлено [4].

6. Метод лечения ран и трофических язв, основанный на активной хирургической тактике и применении в 1-2 фазы раневого процесса иммобилизованных форм ферментов и антисептиков, активным дренированием с использованием выпускников и сорбентов, применении в 2-3 фазах

иммобилизованных форм антисептиков, раннем пластическом закрытии раневых дефектов является оптимальным. Он позволяет значительно сократить сроки госпитализации и уменьшить экономические затраты на лечение больных (1143,1 тыс. бел. руб. на одного больного) [4, 5, 8, 12, 13].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. В лечении гнойных ран обоснованным является комплексный подход, учитывающий фазу раневого процесса и системные сдвиги. Метод лечения ран и трофических язв, основанный на активной хирургической тактике и применении в 1-2 фазы раневого процесса иммобилизованных форм ферментов и антисептиков, активным дренированием с использованием выпускников и сорбентов, применении в 2-3 фазах иммобилизованных форм антисептиков, раннем пластическом закрытии раневых дефектов является оптимальным.

2. В результате проведенных исследований этиологической структуры возбудителей раневой инфекции, чувствительности к антибиотикам и антисептикам, предложен комплексный метод лечения ран, учитывающий фазу раневого процесса. Нами предлагается в первую и вторую фазы раневого процесса использовать средство «Комбиксин», обладающее протеолитическим, сорбционным, антисептическим, а также стимулирующим заживление действием. Во вторую и третью фазы используется перевязочное средство «Диосепт», которое обладает антисептическими и сорбционными свойствами (ТУ ВУ 600125834.015-2007 и ТУ ВУ 600125834.014-2007).

3. Разработанный метод лечения может применяться для всех ран, нуждающихся в протеолитической очистке раневой поверхности и подавлении раневой инфекции (способ лечения гнойно-некротических ран: патент 9934 РБ).

4. Перевязки обычно производят ежедневно. В случае небольшого количества раневого отделяемого или необходимости щадящей очистки раневой поверхности повязку можно менять через день. После туалета раны на всю раневую поверхность укладывается салфетка с иммобилизованными препаратами. Поверх салфетки при большом количестве раневого отделяемого укладывается впитывающий ватно-марлевый слой. Салфетка фиксируется марлевым бинтом. Перевязочное средство необходимо предварительно смачивать физиологическим раствором или кипяченой водой. Рекомендуется поддерживать повязку во влажном состоянии, дополнительно смачивая ее, особенно при наличии сухих некрозов, лечении трофических язв (перевязочное средство для лечения гнойно-некротических ран: патент 9932 РБ).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в научных журналах

1. Бледнов, А.В. Разработка и применение иммобилизованных форм протеолитических ферментов в медицине / А.В. Бледнов // Вестник фармации. – 2005. -№1(27). - С. 9-18.
2. Бледнов, А.В. Особенности иммунного статуса у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями / А.В. Бледнов // Новости хирургии. - 2005. - Т. 13, № 1.- С. 37-45.
3. Бледнов, А.В. Перспективные направления в разработке новых перевязочных средств / А.В. Бледнов // Новости хирургии. - 2006. - Т. 14, № 1. - С. 9-19.
4. Бледнов, А.В. Результаты применения перевязочных средств «Комбиксин» и «Диосепт» в клинике (клинические испытания перевязочных средств) / А.В. Бледнов // Новости хирургии. - 2007. - Т. 15, № 2. - С. 90-97.

Статьи в научных сборниках

5. Косинец, А.Н. Свободная кожная пластика в комплексном лечении гнойных ран / А.Н. Косинец, А.В. Бледнов // Фундаментальные, клинические и фармацевтические проблемы патологии человека: сб. научных трудов сотрудников ВГМУ. – Витебск, 2002. – С. 314-317.
6. Бледнов, А.В. Сохранение активности трипсина, иммобилизованного на различных полимерных материалах / А.В. Бледнов, Л.Н. Кирпиченок, Н.А. Алексеев, А.Н. Косинец // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ЦНИЛ и 55-летию СНО ВГМУ.- Витебск, 2003. – С. 106-109.
7. Бледнов, А.В. Моделирование гнойной раны в разработке новых методов местного лечения ран / А.В. Бледнов, А.Н. Косинец // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ЦНИЛ и 55-летию СНО ВГМУ.- Витебск, 2003. – С. 103-106.

Тезисы докладов

8. Бледнов, А.В. Энзимотерапия в комплексном лечении ран / А.В. Бледнов //Студенческая медицинская наука 21 века: тезисы докл. Междунар. научно-практ. конф. 31-1 ноября 2002 г. – Витебск, 2002. - С. 69-70.
9. Бледнов, А.В. Оценка видового состава и чувствительности к антибактериальным препаратам микроорганизмов в комплексном лечении ран /

А.В. Бледнов // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 55-й итоговой научно-практ. конференции ВГМУ 23-24 апреля 2003г. - Витебск, 2003. - С.134-136.

10. Бледнов, А.В. Особенности иммунного статуса у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями различной локализации: Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации / А.В. Бледнов // Тезисы докладов 59-ой научной сессии университета, посвященной 70-летию ВГМУ, 26-27 февраля 2004 г. - С. 61-62.

11. Бледнов, А.В. Исследование эффективности новых перевязочных средств в эксперименте / А.В. Бледнов // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 61-й научной сессии ун-та, 21-22 марта 2006г. - Витебск, 2006. - С.5-8.

12. Бледнов, А.В. Комплексное лечение больных с гнойно-воспалительными заболеваниями / А.В. Бледнов //Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 59 итог. научно-практической конференции студентов и молодых ученых, 26-27 апреля 2007 г. - Витебск, 2007. - С. 6-8.

13. Поташко, Н.А. Комплексное лечение больных с трофическими язвами /Н.А. Поташко, А.В. Бледнов //Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 59 итог. научно-практической конференции студентов и молодых ученых, 26-27 апреля 2007 г. - Витебск, 2007. - С.45-48.

Патенты

14. Перевязочное средство для лечения гнойно-некротических ран: пат. 9932 Респ. Беларусь, МПК А61L 15/00, А61К 38/185 / А.Н. Косинец, А.В. Бледнов, Н.А. Алексеев, заявитель Вит. гос. мед. ун-т. – № а20041238; заявл. 27.12.04; пол. решение 13.06.07.

15. Способ лечения гнойно-некротических ран: пат. 9934 Респ. Беларусь, МПК А61L 15/00, А61К 38/43 / А.Н. Косинец, А.В. Бледнов, Н.А. Алексеев, заявитель Вит. гос. мед. ун-т. – № а20041070; заявл. 23.11.04; пол. решение 14.06.07.

РЭЗЮМЕ

Бледноў Аляксей Валянцінавіч

Імабілізаваныя ферменты і антысептыкі ў комплексным лячэнні гнойных ран

Ключавыя словы: комплекснае лячэнне гнойных ран, камбінаваны перавязачны сродак, імабілізаваная форма трыпсіну і дыяксідыну, пластычнае зачыненне ран.

Мэта даследавання: аптымізацыя лячэння гнойных ран шляхам распрацоўкі і ўжывання новага камбінаванага перавязачнага сродку, які валодае сарбціёнымі, пратэалітычнымі і антымікробнымі ўласцівасцямі.

Метады даследавання: клінічны, эксперыментальны, мікрабіялагічны, гісталагічны, статыстычны.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Усталявана, што ўключэнне актыўных рэчываў у ячэйкі геля поліакрылатоў і іх супалімераў з'яўляецца эфектыўным спосабам імабілізацыі пратэалітычных ферментаў і антысептыкаў і забяспечвае працяглае вызваленне і структурную захаванасць рэчываў. Распрацаваныя новыя камбінаваныя перавязачныя сродкі "Камбіксін" і "Дыясепт", у якіх імабілізаваная форма трыпсіну забяспечвае захаванне пратэалітычнай актыўнасці ў ране больш 24 гадзін, а імабілізаваная форма дыяксідыну забяспечвае вылучэнне антысептыку ў раневую сераду на працягу 24 гадзін і эфектыўна падаўляе раневую інфекцыю. Ужыванне гэтых сродкаў скарачае працягласць 1 фазы раневага працэсу на 7,5 дзён у эксперыменце на жывёлінах. Распрацаваны новы комплексны метады лячэння гнойных ран, заснаваны на ўжыванні актыўнай хірургічнай тактыкі і мясцовага лячэння, адпаведнага фазам раневага працэсу. У 1-2 фазы раневага працэсу выкарыстоўваецца перавязачны сродак "Камбіксін", ва 2-3 фазы - "Дыясепт". Праведзены мультыцэнтравыя рандамізаваныя клінічныя выпрабаванні. Ужыванне гэтага метаду, пры параўнанні з традыцыйным лячэннем, дазваляе скараціць тэрміны ачышчэння гнойных ран на 6,63 сутак, трафічных язваў - на 7,23 сутак. Тэрміны падрыхтоўкі гнойных ран да пластычнага зачынення скараціліся ў 2,36 разоў.

Вобласць ужывання: хірургія.

РЕЗЮМЕ

Бледнов Алексей Валентинович

Иммобилизованные ферменты и антисептики в комплексном лечении гнойных ран

Ключевые слова: комплексное лечение гнойных ран, комбинированное перевязочное средство, иммобилизованная форма трипсина и диоксидина, пластическое закрытие ран.

Цель исследования: оптимизация лечения гнойных ран путем разработки и применения нового комбинированного перевязочного средства, обладающего сорбционными, протеолитическими и антимикробными свойствами.

Методы исследования: клинический, экспериментальный, микробиологический, гистологический, статистический.

Полученные результаты и их новизна. Установлено, что включение активных веществ в ячейки геля полиакрилатов и их сополимеров является эффективным способом иммобилизации протеолитических ферментов и антисептиков и обеспечивает длительное высвобождение и структурную сохранность веществ. Разработаны новые комбинированные перевязочные средства «Комбиксин» и «Диосепт», в которых иммобилизованная форма трипсина обеспечивает сохранение протеолитической активности в ране более 24 часов, а иммобилизованная форма диоксидина обеспечивает выделение антисептика в раневую среду в течение 24 часов и эффективно подавляет раневую инфекцию. Применение средств сокращает длительность 1 фазы раневого процесса на 7,5 дней в эксперименте на животных. Разработан новый комплексный метод лечения гнойных ран, основанный на применении активной хирургической тактики и местного лечения, соответствующего фазам раневого процесса. В 1-2 фазы раневого процесса используется перевязочное средство «Комбиксин», во 2-3 фазы — «Диосепт». Проведены мультицентровые рандомизированные клинические испытания. Применение этого метода, при сравнении с традиционным лечением, позволяет сократить сроки очищения гнойных ран на 6,63 суток, трофических язв — на 7,23 суток. Сроки подготовки гнойных ран к пластическому закрытию сократились в 2,36 раза.

Область применения: хирургия.

Resume

Blednou Aliaksei Valentinovich

Immobilized enzymes and antiseptics into complex treatment of suppurative wounds

Key words: complex treatment of suppurative wounds, combined dressing, immobilized form of trypsin and dioxydin, plastic wound closing.

The aim of research: optimization of wound treatment by development and application of new combined dressing that possesses proteolytic, antimicrobial and sorbtion features.

The methods of research work: clinical, experimental, microbiological, histological and statistical.

Acquired results and their novelty. There was defined that the inclusion of active substances to polyacrilat and their copolymer gel cell is effective way of enzyme and antiseptic immobilization and provide long release and structural safety of substances. New combined dressings “Kombixin” and “Diosept” were developed. The immobilized form of trypsin provides wound proteolytic activity during more than 24 hours. The immobilized form of dioxydin ensure releasing antiseptic to the wound environment during 24 hours and efficiently suppress wound infection. Experimentally on animals due to these combined dressings the length of wound process first phase was shorten upon 7.5 days. A new complex method of purulent wound treatment was developed. It based upon the active surgical tactics and the topical treatment, according wound process phases. During 1-2^d phases of wound process combined dressings “Kombixin” are applied, when 2-3 phases — «Diosept». The multicentre randomized clinical trials were done. In comparison with conventional treatment the duration of septic wound purification decreased upon 6.63 days, when trophic ulcer — upon 7.23 days. The terms of purulent wound preparation to plastic closing was shorten in 2.36 times.

Application area: surgery.