

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РЯЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА И.П. ПАВЛОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Сифоров Руслан Владимирович

**Роль макролидов в комплексной терапии больных с инфекцией
диабетической стопы**

(экспериментально-клиническое исследование)

14.01.17 – Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор А.В. Федосеев

Рязань - 2018

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
1.1. Синдром диабетической стопы. Определение. Патогенез.....	11
Факторы риска. Классификация	11
1.2. Современные подходы к антибактериальной терапии диабетической стопы.....	17
1.3. Клинические эффекты макролидов.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1. Экспериментальные исследования.....	41
2.1.1. Материалы исследований.....	41
2.1.2. Метод моделирования сахарного диабета.....	42
2.1.3. Обезболивание подопытных животных	43
2.1.4. Метод моделирования ран	43
2.1.5. Определение уровня глюкозы крови экспериментальных животных.....	44
2.2. Клиническая работа	44
2.2.1. Общая характеристика групп больных.....	45
2.3. Методы исследования.....	47
2.3.1. Лабораторные методы исследования.....	47
2.3.2. Инструментальные методы исследования	48
2.3.3. Планиметрические методы исследования.....	49
2.3.4. Цитологическое исследование.....	50
2.3.5. Бактериологическое исследование.....	51
2.3.6. Иммунологическое исследование	52
2.4. Статистические методы анализа данных.....	55

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	56
3.1 Характеристика групп экспериментальных животных.....	56
3.1.1 Результаты формирования аллоксанового сахарного диабета.....	57
3.1.2 Анализ микробного пейзажа полнослойных кожных ран у крыс	58
3.1.3. Анализ заживления полнослойных кожных ран у крыс в эксперименте	61
3.1.4. Результаты цитологического контроля течения раневого процесса ...	64
3.1.5 Иммунологическая эффективность применения макролидов	69
3.2. Результаты клинической работы	74
Характеристика групп больных до лечения.....	74
3.2.1. Характеристика обследованных больных	74
3.2.2. Клиническая характеристика.....	74
3.2.3 Результаты лабораторных показателей крови обследованных больных	76
3.2.4 Сопутствующие заболевания у пациентов, включенных в исследование	77
3.2.5 Оценка выраженности полинейропатии у обследованных больных....	78
3.2.6. Состояние магистрального кровотока у обследованных пациентов...	79
3.2.7 Характер выполненных первичных хирургических вмешательств в группах пациентов	81
3.2.8 Микробиологическая характеристика раневых дефектов в группах больных до начала лечения.....	83
3.2.9 Состояние раневых дефектов у пациентов до начала лечения	86
3.2.10 Выраженность инфекционного процесса у обследованных больных до начала лечения.....	87

3.2.11 Цитологическая характеристика раневых дефектов у обследованных пациентов до лечения	88
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВОДИМОГО ЛЕЧЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ	91
4.1 Клиническая характеристика раневых дефектов стоп у пациентов после лечения	92
4.2 Динамика течения раневого процесса у обследованных больных на фоне проводимого лечения.....	94
4.3 Динамика микробной обсемененности раневой поверхности у пациентов на фоне проводимого лечения	96
4.4 Цитологическая характеристика течения раневого процесса на фоне проводимого лечения.....	97
4.5 Результаты пластического закрытия раневых дефектов на стопе в группах пациентов	100
4.6 Клинические случаи лечения пациентов с нейропатической и нейроишемической формой синдрома диабетической стопы.....	103
4.7 Длительность пребывания в стационаре	109
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	111
ВЫВОДЫ	120
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	125

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Согласно современным оценкам к 2035 г. распространенность сахарного диабета в мире возрастет почти до 600 миллионов человек. В Российской Федерации по данным государственного регистра СД обращаемость по поводу СД/год составляет 4,04 миллиона человек: 340 тысяч - с СД I типа и 3,7 миллиона – с СД II типа. Предполагается, что истинная численность превышает эти данные в 3-4 раза[4,103]. Осложнения сахарного диабета получили широкое распространение в клинической практике, а борьба с ними намного тяжелее, чем с самим сахарным диабетом.

Одно из грозных осложнений СД - заболевания стопы, что является источником мучительных страданий для пациента и причиной значительных издержек для общества [116,176].

Наиболее распространенным заболеванием является язвенное поражение стоп, причем, заболеваемость в год составляет примерно 2-4% в развитых странах [114,176]. К основным факторам язвенного поражения стоп относятся: диабетическая сенсорная нейропатия, связанные с моторной нейропатией деформации стоп, малые травмы стоп и заболевания периферических артерий. После образования язвы она становится уязвимой перед инфекциями и зачастую требует неотложного вмешательства. Язвы стопы заживают лишь в 2/3 всех случаев, а у 28% пациентов язвенное поражение может привести к ампутации нижней конечности того или иного уровня [46,113,148]. Известно, что смертность от «высоких» ампутаций составляет 45-50%, причем, каждый второй пациент после «высокой» ампутации погибает в течение 5 лет[149,176].

Ежегодно более 1 миллиона пациентов с синдромом диабетической стопы теряют, по крайней мере, часть ноги. И, если исходить из этих данных, то каждые 20 секунд где-то в мире производится ампутация нижней конечности из-за диабета [3,60].

Развитие инфекции стопы связано с серьезным нозологическим состоянием, подразумевающим дискомфорт, снижение физиологического и психологического уровня жизни, необходимость посещения медицинских учреждений, уход за раной, антимикробную терапию и часто хирургическое вмешательство [48,50,152]. Более того, инфекция стопы на фоне сахарного диабета требует госпитализации и способно повлечь необходимость в срочной ампутации нижней конечности [44,186]. Устранение инфекции требует пристального внимания при постановке диагноза, надлежащего забора материала для идентификации микробной культуры, вдумчивого подбора эмпирической, а затем доказательной антимикробной терапии, срочного выявления необходимости хирургического вмешательства и иных необходимых форм ухода за раной [76,146].

Учитывая повышенную восприимчивость больных сахарным диабетом к инфекциям, в первую очередь, за счет снижения иммунологической реактивности, связанной с нарушением функции полиморфноядерных лейкоцитов (нарушение миграции, фагоцитоза, внутриклеточного киллинга, хемотаксиса), снижение функции моноцитов и лимфоцитов [83,89,150], а также высокая степень хронизации раневого процесса [15,24,33] с последующим формированием биопленок, что приводит к снижению чувствительности бактерий к антибактериальным средствам в 100-1000 раз [32,68,160].

Принимая во внимание, что макролиды (кларитромицин и азитромицин) в субингибирующих концентрациях способны снижать продукцию альгината (способствующего адгезии бактерий на биологических поверхностях), тем самым уменьшают степень формирования биопленок [16], что было наглядно показано при лечении пациентов с синдромом диабетической стопы с биопленочными формами бактерий [27,28]. Наряду с данным эффектом макролиды обладают иммуномодулирующей и противовоспалительной активностью, что делает перспективными сравнительные исследования и анализ комбинированной антимикробной терапии с включением макролидов при лечении инфекции диабетической стопы.

Таким образом, более детальный и доказательный подход к лечению инфекции диабетической стопы приведет к улучшению клинического исхода болезни.

Цель работы

Улучшить результаты лечения больных с гнойно-некротическими осложнениями синдрома диабетической стопы за счет добавления антибактериального препарата группы макролидов в схему антибактериальной терапии.

В соответствии с поставленной целью работы были сформулированы следующие **задачи исследования:**

1. Изучить влияние антибактериального препарата группы макролидов на течение раневого процесса с изучением цитологического материала в эксперименте у крыс на фоне аллоксанового диабета.

2. Исследовать функциональную активность нейтрофилов периферической крови крыс на фоне модели аллоксанового диабета и модели плоскостной кожной раны в зависимости от подхода к антибактериальной терапии.

3. Оценить динамику микробной обсемененности ран пациентов с синдромом диабетической стопы при использовании комбинированной антимикробной терапии с группой макролидов.

4. Оценить динамику воспалительного процесса в ранах пациентов с синдромом диабетической стопы при использовании комбинированной антимикробной терапии с группой макролидов.

5. Провести сравнительный анализ течения раневого процесса у пациентов с инфекцией диабетической стопы при использовании комбинированной антибактериальной терапии с группой макролидов.

6. Оценить ближайшие результаты лечения пациентов с синдромом диабетической стопы на фоне комбинированной антибактериальной терапии с группой макролидов.

Научная новизна

Выполнена комплексная оценка клинических, цитологических особенностей течения раневого процесса в полнослойных кожных ранах крыс с аллоксановым диабетом на фоне антибиотикотерапии кларитромицином.

Изучена функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови лабораторных животных на фоне экспериментальной модели диабета, в зависимости от подхода к антибактериальной терапии.

Изучена эффективность антибактериальной терапии с включением препарата группы макролидов у пациентов с различными формами синдрома диабетической стопы.

Практическая значимость

Полученные результаты позволили улучшить эффективность лечения пациентов с инфекцией диабетической стопы, как с нейропатической, так и с нейроишемической формой СДС (без критической ишемии).

Предложенный способ антибактериальной терапии прост и доступен в применении, он может быть рекомендован к внедрению в хирургических стационарах городских больниц и ЦРБ. За счет наличия пероральных форм кларитромицина, кратности приема данного препарата возможно применение и в амбулаторной практике.

Положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Применение антибактериального препарата группы макролидов у крыс на фоне экспериментального сахарного диабета и моделью инфицированной полнослойной кожной раны спины увеличивает количество фагоцитирующих нейтрофильных лейкоцитов и улучшает показатели фагоцитоза.

2. Применение макролидов в комплексной антибактериальной терапии у пациентов с инфекцией диабетической стопы сокращает сроки

очищения раны, что позволяет прибегнуть к окончательному этапу хирургического лечения – пластической реконструкции стопы в более короткие сроки.

3. Комплексная антибактериальная терапия с применением макролидов сокращает осложнения приживления кожного трансплантата при дерматомной аутодермопластике у пациентов с синдромом диабетической стопы.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены в практику отделения гнойной хирургии ГБУ РО «ГКБСМП» г. Рязань.

Полученные теоретические и практические результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедре общей хирургии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Степень достоверности и апробации результатов

Основные положения диссертационной работы опубликованы, доложены, обсуждены и одобрены на заседаниях кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

На III Международном конгрессе, посвященном 100-летию со дня рождения акад. М.И. Кузина «Раны и раневые инфекции» (Москва, 2016); IМежрегиональной конференции амбулаторной хирургии и стационарозамещающих технологий России «Реалии и будущее хирургии быстрого восстановления» (Рязань, 2016); VII Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения» (Санкт-Петербург, 2017); XVII Международной конференции студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 2017); XXVII Российском симпозиуме с Международным участием «Калининские чтения»

(Судак, 2017); III Международном конгрессе «Сахарный диабет и хирургические инфекции» (Москва, 2017).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 3 – в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, выводов и практических рекомендаций, иллюстрирована 22 рисунками и 31 таблицей.

Список литературы содержит 191 источник: из них 51 отечественная и 140 зарубежных работ.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Синдром диабетической стопы. Определение. Патогенез.

Факторы риска. Классификация

Синдром диабетической стопы (СДС) определяется, как инфекция, язва и/или деструкция тканей стопы, связанная с неврологическими расстройствами или снижением магистрального кровотока различной степени тяжести у пациентов с сахарным диабетом [26,110].

В мировой клинической практике принята единая классификация СДС, согласно которой различают три основные клинические формы [1]:

1. Нейропатическая форма

- Трофические язвы стопы
- Диабетическая остеоартропатия – стопа Шарко

2. Ишемическая форма

3. Нейроишемическая форма

Исходя из современных определений СДС, **основными факторами риска** его развития **считают** [1,12]:

- Дистальную диабетическую полинейропатию
- Заболевание периферических артерий в стадии критической ишемии
- Деформацию стоп на фоне дистальной полинейропатии
- Диабетическую нефропатию, особенно на стадии хронической почечной недостаточности
- Диабетическую ретинопатию со значительным снижением остроты зрения
- Низкий социальный статус
- Отсутствие адекватного ухода за ногами
- Вредные привычки (курение, злоупотребление алкоголем)

При этом, основным патогенетическими факторами, приводящими к формированию язв стоп, являются травма, деформация и ишемия, как изолированно, так и в сочетании друг с другом [12,38,41].

Существуют различные классификации раневых дефектов при СДС, включающие такие параметры, как глубина повреждения, наличие инфекции и ишемии, характер и количество экссудата.

Наиболее популярной является классификация по Вагнеру [1], где:

0-я степень - Раневой дефект отсутствует, но есть сухость кожи, клювовидная деформация пальцев, выступание головок метатарзальных костей, другие костные и суставные аномалии.

1-я степень - Поверхностный язвенный дефект без признаков инфицирования.

2-я степень - Глубокая язва, обычно инфицированная, но без вовлечения костной ткани.

3-я степень - Глубокая язва с вовлечением в процесс костной ткани, наличием остеомиелита.

4-я степень - Ограниченная гангрена (пальца или отдела стопы).

5-я степень - Гангрена всей стопы.

Данная классификация позволяет ранжировать раневые дефекты в зависимости от глубины повреждения и наличия инфекции.

Также применяется классификация Техасского университета (сочетает характеристику глубины, инфекционного и ишемического процессов при наличии трофической язвы, может быть использована для оценки динамики лечебного процесса) и PEDIS (характеризует глубину поражения мягких тканей, состояние периферического кровотока, иннервации, тяжесть, инфекционного процесса) (табл. 1,2) [2,59].

Однако, на практике данные классификаторы используются значительно реже, в основном, в специализированных отделениях и научных исследованиях.

Таблица 1 - Классификация Техасского университета

Стадия	0	I	II	III
А	Полная эпителизация до или после язвы	Поверхностная язва без вовлечения сухожилий или костей	Язва, распространяющаяся до сухожилия или капсулы	Язва, распространяющаяся до кости или сустава
В	Полная эпителизация до или после язвы с признаками инфицирования	Поверхностная язва без вовлечения сухожилий или костей с признаками инфицирования	Язва, распространяющаяся до сухожилия или капсулы с признаками инфицирования	Язва, распространяющаяся до кости или сустава с признаками инфицирования
С	Полная эпителизация до или после язвы с признаками ишемии	Поверхностная язва без вовлечения сухожилий или костей с признаками ишемии	Язва, распространяющаяся до сухожилия или капсулы с признаками ишемии	Язва, распространяющаяся до кости или сустава с признаками ишемии
Д	Полная эпителизация до или после язвы с признаками инфекции и ишемии	Поверхностная язва без вовлечения сухожилий или костей с признаками инфекции и ишемии	Язва, распространяющаяся до сухожилия или капсулы с признаками инфекции и ишемии	Язва, распространяющаяся до кости или сустава с признаками инфекции и ишемии

Таблица 2 - Классификация язвенных дефектов у больных с СДС PEDIS

Оцениваемый параметр	Степень выраженности
Perfusion - состояние кровотока (3 ст.)	1 - нет признаков заболевания периферических артерий (ЗПА) нижних конечностей 2 - есть признаки ЗПА, но нет критической ишемии (ЛПИ>0,5, ТсрО ₂ >30 мм рт.ст.) 3 - критическая ишемия (ЛПИ <0,5, ТсрО ₂ <30 мм рт.ст.)
Extent – размер (см ²)	1 - поверхностная язва, затрагивающая только кожу 2 - глубокая язва, проникающая через все слои кожи с вовлечением мышц, сухожилий, фасций 3 - глубокий дефект с вовлечением костей и суставов
Depth – глубина (3 ст.)	1- поверхностная язва, затрагивающая только кожу 2- глубокая язва, проникающая через все слои кожи с вовлечением мышц, сухожилий, фасций 3- глубокий дефект с вовлечением костей и суставов
Infection – инфекция (4 ст.)	1- нет симптомов и признаков инфекции 2 - инфекционное воспаление кожи и жировой клетчатки без системных признаков; наличие минимум 2 признаков (местный отек, уплотнение, гиперемия < 2 см, отделяемое) 3 - гиперемия > 2 см вокруг раны, признаки абсцесса, остеомиелита, септического артрита, фасциита; системные признаки отсутствуют 4 - наличие системных признаков инфекции: t тела >38°C, ЧСС > 90 в мин., лейкоцитоз > 12000
Sensation - чувствительность (2 ст.)	1 - чувствительность стоп сохранена 2 - потеря тактильной (10 г монофила- мент) и вибрационной (128 Гц камертон, биотезиометрия >25V) чувствительности

Для удобства клиницистов в 2004 г. было предложено ведение медицинской документации пациентов с хроническими раневыми дефектами по системе MEASURE, включающей в себя ключевые параметры, используемые при их оценке в процессе лечения: **M** (Measure) – измерение раны (длина, ширина, глубина и площадь), **E** (Exudate) – экссудат (количество и качество), **A** (Appearance) – внешний вид (раневое ложе, тип ткани и количество), **S** (Suffering) – болевой синдром (характер и интенсивность боли), **U** (Undermining) – деструкция (наличие или отсутствие), **R** (Reevaluate) – наблюдение (регулярный контроль всех параметров), **E** (Edge) – край (состояние краев раны и окружающей кожи) [45].

Синдром диабетической стопы зачастую ассоциирован с заболеванием периферических сосудов, причиной чему является как сам диабет, так и ряд других причин [9,49,175].

В развитии недостаточности артериального кровообращения нижних конечностей, согласно классификации Фонтейна-Лериша-Покровского [191], широко распространенной в отечественной литературе, выделяют несколько стадий:

1. Бессимптомное атеросклеротическое поражение артерий, выделяемое только при инструментальном исследовании.
2. Артериальная недостаточность, возникшая при функциональной нагрузке (перемежающаяся хромота).
3. Артериальная недостаточность в покое (ишемия покоя).
4. Трофические нарушения, некроз тканей.

В зарубежной литературе чаще используется классификация заболеваний периферических артерий, предложенная R. Rutherford [153].

Однако, представленные классификации опираются лишь на клинические проявления артериальной недостаточности и не позволяют оценивать ни уровень сосудистого поражения, ни его протяженность. В связи с этим в 2007 году была предложена морфологическая классификация поражения сосудистого русла TASCII [34,112], которая в том же году была доработана L.

Graziani et al. [19], что позволило систематизировать поражение артерий нижних конечностей у больных СД с нейро-ишемическими язвами или гангреной стопы с учетом морфологических особенностей (табл. 3).

Таблица 3 - Морфологическая классификация поражений артерий ниже паховой связки у больных СД и тканевыми дефектами на стопе (по: Graziani L., 2007)

Класс	Ангиографическая картина
1	Изолированное сужение одной артерии на голени
2а	Изолированное сужение в бедренно-подколенном сегменте или двух артерий на голени при проходимости одной из большеберцовых артерий
2б	Изолированное сужение в бедренно-подколенном сегменте или двух артерий на голени при проходимости малоберцовой артерии
3	Изолированная окклюзия одной артерии и множественные сужения артерий голени и/или в бедренно-подколенном сегменте
4	Окклюзия двух артерий и множественные сужения артерий голени и/или в бедренно-подколенном сегменте
5	Окклюзия трех артерий голени
6а	Окклюзия трех артерий и множественные сужения артерий голени и/или в бедренно-подколенном сегменте
6б	Окклюзия в бедренно-подколенном сегменте и окклюзии всех трех артерий голени, однако, частично проходимы артериальные сегменты ниже колена
7	Множественные окклюзии в бедренно-подколенном сегменте и отсутствие видимых артериальных сегментов ниже колена

Учитывая такое многообразие существующих классификаций при СДС, характеризующих как изменение тканей стопы, так и периферическую артериальную недостаточность, говорит о существовании множества нерешенных вопросов в диагностике и лечении данного заболевания.

1.2. Современные подходы к антибактериальной терапии диабетической стопы

Инфицированная диабетическая стопа – это любое инфекционное поражение стопы у пациентов с сахарным диабетом [30]. Данная патология включает в себя паронихии, целлюлиты, абсцессы, миозиты, некротизирующие фасцииты, остеомиелиты, тендовагиниты, остеоартриты. И такое классическое поражение стопы, для больных сахарным диабетом, как глубокая инфицированная центральная язва стопы (malperforans) [11].

Раневые дефекты стоп у больных диабетом часто приобретают хронический характер, что связано с накоплением конечных продуктов усиленного гликозилирования (последствия гипергликемии), длительным воспалением и апоптозом [67,178,188]. Факторы предрасположенности к инфекции включают глубокую, рецидивирующую рану или рану травматической этиологии; иммунологические изменения, связанные с функцией нейтрофилов при диабете; хроническую почечную недостаточность [145,155,156].

Надежное подавление раневой инфекции – одно из важных условий заживления раны при СДС. Наличие инфицированной раны или высокий риск ее инфицирования (длительно существующие язвы, ишемические некрозы) являются основными показаниями к антибактериальной терапии. У больных с СД, учитывая ослабление иммунной системы, основанием для применения антибиотиков являются не только системные, но и местные признаки раневой инфекции [35,180].

Однако язвенные дефекты стопы у пациентов с СД не всегда являются инфицированными. Диагноз инфицированной язвы стопы ставится на основании следующих клинических симптомов: наличие гнойного отделяемого или, как минимум, двух основных признаков воспаления (гиперемия, отек, местная гипертермия, боль или болезненность при пальпации) [111,174].

В клинической практике, при обследовании пациента с диабетической стопой, врач в первую очередь должен определить наличие инфекции и степень ее тяжести. За последние десятилетия предложено множество классификационных схем раневых дефектов. Наиболее широкое применение на практике получила классификация язвенных дефектов по глубине поражения тканей (Wagner) [169,183].

В нескольких классификациях язв диабетической стопы включен критерий наличия или отсутствия «инфекции» (без определения самого понятия). И лишь в двух почти идентичных схемах, предложенных Американским обществом инфекционистов (АОИ) и МРГДС («инфекционная» часть классификации PEDIS), дается определение, как наличия инфекции, так и степени ее тяжести (табл.4) [74,86,167].

Однако, система PEDIS (включая классификацию и другие характеристики, такие как артериальная недостаточность, нейропатия и площадь раневого дефекта) МРГДС в настоящее время не получила достаточного распространения в клинической практике и используется зачастую лишь в исследовательских целях и в специализированных отделениях [106,161].

Таким образом, по данным ряда исследований классификация ИДС по средствам полной системы PEDIS или инфекционной части схемы АОИ/МРГДС позволило предсказать необходимость госпитализации или ампутации нижней конечности. Так, D.K.Wukich et al. показали значимость работоспособности системы PEDIS [164,191].

В другом ретроспективном когортном исследовании группой американских ученых во главе с L.M. Pense рассматривался клинический исход у 57 пациентов с гнойно-некротическим поражением стоп на фоне СД согласно уровню приверженности их клинических врачей практическим рекомендациям АОИ. Было показано, что уровень приверженности врачей различным рекомендациям варьировал от очень высокого до очень низкого, но, ни в одном случае приверженность не была полная [77,166].

Таблица 4 - Классификационные системы для определения наличия и тяжести инфекции стопы у больного диабетом, разработанные Американским обществом инфекционистов (АОИ) и инфекционной частью классификации PEDIS МРГДС

Клиническая классификация инфекции с определениями	Классификация АОИ/МРГДС
Неинфицированная рана: отсутствие системных или местных признаков инфекции	1 (отсутствие инфекции)
<p>Инфицированная рана</p> <p>- Наличие 2 и более признаков инфекции:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Местный отек или уплотнение • Гиперемия >0,5 см* вокруг раневого дефекта • Боль или болезненность при пальпации • Местное повышение температуры • Гнойные выделения <p>- Следует исключить другие причины воспаления кожных покровов (например, травму, подагру, острую нейроостеоартропатию Шарко, перелом, тромбоз, венозную застой)</p> <p>- Инфекция охватывает только кожный покров или подкожную ткань (без вовлечения глубоких тканей и без системных проявлений, как описано ниже)</p> <p>- Гиперемия не превышает 2 см* вокруг раневого дефекта</p> <p>- Отсутствие местных осложнений и системных признаков инфекции</p>	2 (Легкая степень)
<p>- В инфекционный процесс вовлечены более глубокие анатомические структуры (например, кости, суставы, сухожилия, мышцы) или эритема распространяется >2 см* от края раны</p> <p>- Отсутствие системных признаков или симптомов инфекции</p>	3 (Средняя степень)
<p>- Всякая инфекция стопы с синдромом системной воспалительной реакции (ССВР), как о том свидетельствуют ≥ 2 нижеследующих признаков:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Температура тела $>38^{\circ}\text{C}$ или $<36^{\circ}\text{C}$ • Пульс >90 уд/мин • Частота дыхания >20 вдохов/мин или парциальное давление $\text{CO}_2 <4,3\text{кПА}$ (32 мм рт.ст.) • Уровень лейкоцитов в крови >12000 или $<4000/\text{мм}^3$ или $>10\%$ нейтрофильных лейкоцитов 	4 (Тяжелая степень)

Примечание: *В любом направлении от края раны. Наличие клинически значимой ишемии стопы существенно затрудняет как диагноз, так и лечение инфекции

Нельзя забывать о том, что антибактериальная терапия часто приводит к побочным реакциям, повышению риска устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, а также к финансовым затратам [130,136]. Поэтому, антибактериальная терапия должна назначаться только для лечения инфицированных ран.

В литературе отсутствуют доказательства того, что терапия антибактериальными препаратами эффективна в случае клинически неинфицированных ран, несмотря на теоретические рассуждения о бактериальной бионагрузке хронических раневых дефектов [134,162,170].

Таким образом, более широкое применение системы PEDIS МРГДС позволит врачу-клиницисту принимать верное решение в пользу противомикробной терапии, используя систему градации инфекции.

Достаточно противоречивы данные в литературе по поводу поверхностной локальной антибактериальной терапии ран. С одной стороны, данный метод антибиотикотерапии привлекателен за счет возможности достичь высокой концентрации препарата в месте локализации инфекции, что актуально при наличии поражений сосудистого русла. К тому же снижается риск потенциальной токсичности на системном уровне, что позволяет применение препаратов не доступных для системной терапии [96,127]. Однако, существуют известные теоретические и практические проблемы местного применения антибактериальных препаратов, такие, как потенциально высокая предрасположенность к возникновению гиперчувствительности, более низкий порог развития устойчивости к антибиотику, более низкая эффективность с точки зрения лечения инфекции в окружающих непораженных тканях [96,108]. Тем не менее, эффективность применения мазей, содержащих антибактериальный препарат, не вызывает сомнения. Так, широкое применение получили антибактериальные мази на гидрофильной основе. Можно отметить появление на фармацевтическом рынке современных препаратов, таких, как «Банеоцин», содержащий два антибактериальных препарата (полипептидный

антибиотик и аминогликозид), между которыми существует синергизм, мазь «Офломелид» с антимикробным компонентом в составе офлоксацин.

Большое рандомизированное исследование 835 пациентов с инфицированной язвой диабетической стопы показало, что исследуемый антибактериальный препарат для наружного применения пексиганан оказался настолько же эффективным, как и пероральная терапии фторхинолоном [128].

В одном исследовании проведено сравнение результатов лечения пациентов с инфицированными язвами стоп на фоне сахарного диабета, которые проходили лечение стандартной терапией наряду с ежедневным прикладыванием гентамицинколлагеновой губки или без него. По данным авторов, частота клинического излечения в группе больных, использовавших губку, была статистически ниже на 7-й день, но статистически выше при оценке излечения [181].

Однако, во множестве публикаций говорится о несостоятельности доказательной базы, позволяющей рекомендовать наружную противомикробную терапию для лечения инфицированных язв у больных диабетической стопой [158,163,182].

В настоящее время отсутствуют данные о том, какая концентрация антибактериального препарата в тканях позволяет предсказать успешный клинический результат [54].

Для достижения терапевтической эффективности в месте локализации инфекции необходимо достигнуть концентрации соответствующего уровня в сыворотке крови [85,147]. Парентеральные антибиотики быстрее и надежнее достигают терапевтического уровня в сыворотке крови, именно поэтому их рекомендуют больным с хронической или тяжелой инфекцией [43,115]. Все же, после стабилизации клинического состояния пациента и получения ответа на лечение инфекции большинство больных можно перевести на пероральную терапию, что позволяет снизить риски осложнений, связанных с внутривенным введением, и сделать лечение, как правило, менее затратным [115].

Биодоступность антибактериальных препаратов варьирует от типа к типу, но остается высоким для ряда веществ, таких как фторхинолоны, рифампицин, триметоприм/сульфаметоксазол, линезолид, доксициклин, макролиды [71,117].

Причиной ограничения доставки к тканям антибактериального препарата у больных диабетической стопой и, как следствие, снижение поступления антибактериального препарата в инфицированные ткани стопы зачастую служат заболевания периферических сосудов, а не диабет как таковой [55,175]. Неоспоримо, что пациенты с тяжелой артериальной недостаточностью должны проходить реваскуляризацию, но даже при наличии критической ишемии конечности антибактериальные препараты играют важную роль при лечении и предотвращения дальнейшего распространения инфекции [70,175]. Данная проблема артериальной недостаточности у пациентов с диабетом явилась показанием к экспериментальному использованию новейших методов доставки антибиотиков к нижним конечностям, таких, как лечение раны отрицательным давлением с подключением капельницы с антисептиками или антибиотиками [138,139,177], внутриартериальное введение антибактериальных препаратов [91], ретроградная внутривенная перфузия под давлением [154].

Однако, ни один из методов не получил широкого распространения на практике [115].

В настоящее время оптимальная длительность антибиотикотерапии не определена. Основываясь на данных доступных исследований, можно сказать, что при легких и средних инфекциях диабетической стопы длительность эффективной терапии обычно составляет от 1 – 2 недели [53,54,143]. Тем временем, при более серьезных инфекциях обычно достаточно 3-х недельной терапии [53,57,92]. Однако, антибактериальная терапия может быть отменена ранее указанных сроков при исчезновении признаков и симптомов инфекции, даже при незажившем раневом дефекте, так как антибиотики используются для купирования инфекции, а не лечения ран [53,129,185].

В некоторых случаях длительная парентеральная терапия была эффективной при амбулаторном лечении [47,133]. Также длительность

антибактериальной терапии может быть снижена благодаря хирургическому вмешательству: при адекватной хирургической обработке, резекции или ампутации инфицированной ткани и т.д. У ряда пациентов, где невозможно было выполнить адекватную хирургическую обработку или при наличии инородного тела в месте инфекционного процесса, потребовалась пролонгированная или повторная антибактериальная терапия [53,129].

При лечении инфекции у больных диабетической стопой проводится два вида антибактериальной терапии – эмпирическая и целенаправленная [23].

Первоначальный выбор антибактериальной терапии, как правило, носит эмпирический характер, будучи продиктован клиническими проявлениями инфицирования.

Эмпирическая антибактериальная терапия проводится до получения результата микробиологического исследования из гнойного очага и играет одну из главных ролей в комплексной терапии у больных с гнойно-некротическим поражением стоп при сахарном диабете [39,81].

В рекомендациях международной рабочей группы по диабетической стопе (2015) при подборе эмпирической антибактериальной терапии говорится о необходимости учитывать такие факторы, как предположительный возбудитель инфекционного процесса, сопутствующие заболевания у пациента, а также факторы, связанные с назначаемым препаратом (табл.5) [115].

Таблица 5 - Факторы способные повлиять на выбор антибактериальной терапии при СДС

Факторы, связанные с инфекцией
<ul style="list-style-type: none"> • Клиническая тяжесть инфекции • Антибиотикотерапия в анамнезе в предыдущие 3 месяца • Наличие инфекции костной ткани (предполагаемой или доказанной)
Факторы, связанные с патогенами
<ul style="list-style-type: none"> • Вероятность наличия патогена (-ов), отличающегося по этиологии от ГПК • Колонизация или инфекция ОМЛР в анамнезе • Местный уровень антибиотикорезистентности
Факторы, связанные с пациентом
<ul style="list-style-type: none"> • Аллергические реакции на любые антибиотики • Сниженный иммунитет • Предпочтения пациентов в отношении лечения • Приверженность пациента терапии • Почечная или печеночная недостаточность • Синдром мальабсорбции • Заболевания периферических артерий в пораженных конечностях • Высокий риск ОМЛР или необычных патогенов
Факторы, связанные с препаратом
<ul style="list-style-type: none"> • Профиль безопасности • Возможность взаимодействия между лекарственными средствами • Дозировка • Доступность лекарственной формы / ограничения • Вопросы стоимости (приобретения и введения) • Показания к назначению • Опасность вызвать инфекцию <i>C.difficile</i> или антибиотикорезистентность

Примечание: ГПК – грамположительные кокки (аэробы); ОМЛР – организм с множественной лекарственной устойчивостью

Для оптимизации эмпирической антибиотикотерапии предлагается выполнять мазки-отпечатки образца ткани из раневого дефекта с последующей их окраской по Граму и микроскопией, что позволит получить врачу сведения о числе и грам-типе присутствующих патогенов [126]. Данная процедура достаточно проста и недорога, что дает преимущество к ее применению в регионах с ограниченными ресурсами.

Результаты исследований в Танзании показали, что среди 128 больных с синдромом диабетической стопы положительная прогностическая значимость мазка, окрашенного по Граму, составила 93% в отношении бактериального роста, причем прогностическая значимость составила 75% (15/20) для грамположительных и 82% (31/38) для грамотрицательных организмов [179].

Практически всегда эмпирический курс антибактериальной терапии включает в себя назначение препарата, обладающего активностью против наиболее часто встречающихся штаммов стафилококков и стрептококков.

Однако, в рекомендациях рабочей группы по инфекции стопы (2015) говорится о возможности включения препаратов, обладающих активностью против MRSA в стартовую терапию у пациентов со значительным риском инфицирования данным микроорганизмом. Пациентам, в анамнезе прошедшим курс антибактериальной терапии, следует рассмотреть возможность включения препаратов, спектр которых охватывает грамотрицательную флору и, в редких случаях, энтерококков. Эмпирическая противобактериальная терапия имеет место при некротических, гангренозных или зловонных ранах.

В стартовой противопсевдомонадной терапии обычно нет необходимости, за исключением случаев превалирования факторов синегнойной инфекции, таких, как распространенность *Pseudomonas* в данном регионе или частое нахождение стопы в воде.

В редких случаях гнойно-некротический процесс у больных диабетической стопой имеет грибковую, чаще – грибково-бактериальную природу [165].

В литературе можно встретить проспективные сравнительные исследования ряда антибактериальных препаратов, применяемых самостоятельно или в установленных сочетаниях продемонстрировавшие клиническую эффективность у пациентов с СДС (табл. 6) [40,53,97].

Таблица 6 - Выбор эмпирической антибактериальной терапии при ИДС

Степень тяжести инфекции	Сопутствующие факторы	Обычные возбудители	Потенциальная эмпирическая антибиотикотерапия
Легкая	Нет осложняющих обстоятельств	ГПК	S-Spen; цеф 1-го поколения
	Аллергия или непереносимость β -лактама	ГОП	Клиндамицин; ФХ; T/S; макролид; докси
	Недавно проведенная антибиотикотерапия	ГПК + ГОП	β -L-ase-1; T/S; ФХ
	Высокий риск MRSA	MRSA	Линезолид; T/S; докси; макролид; ФХ;
Средняя и тяжелая	Нет осложняющих обстоятельств	ГПК \pm ГОП	β -L-ase-1; цеф 2/3-го поколения
	Недавно проведенная антибиотикотерапия	ГПК \pm ГОП	β -L-ase-2; цеф 3-го поколения; карбапенемы 1 группы
	Размягчение (мацерация) язвенного дефекта	ГОП, включая <i>Pseudomonas</i>	β -L-ase-2; S-Spen + цефтазидим, S-Spen + cipro, карбапенемы 2 группы
	Ишемия конечности/ некроз/ газообразование	ГПК \pm ГОП \pm анаэробы	β -L-ase-1 или 2; карбапенем 1 или 2 группы; цеф 2/3 поколения + клиндамицин метронидазол
	Факторы риска MRSA	MRSA	Рассмотреть добавление или заменить на: гликопептиды; линезолид; даптомицин; фузидиевая к-та; T/S(\pm rif); доксициклин; ФХ
	Факторы риска резистентных ГОП	ESBL	Карбапенемы, ФХ, аминогликозид, колистин

Примечание: ГПК – грамположительные кокки; ГОП – грамотрицательные палочки; MRSA – метициллинрезистентный золотистый стафилококк; ESBL – микроорганизм, продуцирующий бета-лактамазу расширенного спектра; S-Spen – полусинтетический пенициллиназоустойчивый пенициллин; β -L-ase – ингибитор β -лактама, β -лактамазы; β -L-ase-1 – амоксициллин/клавуанат, ампициллин/сульбактам, β -L-ase-2 – тикарциллин/клавуанат, пиперациллин/тазобактам; докси – доксициклин; Карбапенем 1 группы – эртапенем; Карбапенем 2 группы – имипенем, меропенем, дорипенем; Цеф – цефалоспорин; ФХ – фторхинолон с высокой активностью против аэробных грамположительных кокков; Cipro – противосинегнойный фторхинолон; T/S – триметоприм/сульфаметоксазол; T/S (\pm rif) - триметоприм/сульфаметоксазол независимо от сочетания с рифампицином

Тем временем, для терапии инфекции диабетической стопы применяются препараты, которые не оценивались в проспективных сравнительных исследованиях. К ним относятся полусинтетические пенициллиназоустойчивые пенициллины (нафциллин, диклоксациллин, флуклоксациллин), гликопептиды (оритаванцин, телаванцин, далбаванцин), цефалоспорины (цефазолин, цефтриаксон, цефтазидим), рифампицин, фузидиевая кислота, триметоприм/сульфаметоксазол, доксициклин, препараты группы макролидов.

С момента появления результатов анализа культуры и антибактериальной резистентности выделенных штаммов следует рассмотреть переход на более специфичную схему антибиотикотерапии, направленную только против изолированных возбудителей.

Для снижения вероятности антибиотикоустойчивости предпочтительны препараты относительно узкого спектра действия, при этом, важно оценивать ответ инфекции на эмпирическую терапию [36,115].

При улучшении состояния больного и хорошей переносимости в смене препарата может не быть необходимости, даже в случае, когда все выделенные штаммы резистентны к назначенному антибактериальному препарату [92,129]. Однако при отсутствии ответа необходимо модифицировать лечение для охвата всех выделенных штаммов микроорганизмов [115]. А в случае отсутствия эффекта, несмотря на чувствительность выделенных бактерий к антибактериальной терапии, рекомендуется определить: необходимость хирургического вмешательства; факт наличия штаммов, для выделения которых необходимы сложные питательные среды; недостаточный уровень антибиотика в сыворотке крови по причине недостаточного его всасывания или взаимодействия с другими лекарственными препаратами; соблюдение пациентом назначенной терапии [115].

В ряде зарубежных работ говорится о том, что понимание принципов антибиотикотерапии представляется более важным, чем изучение конкретных препаратов, пользующихся популярностью в то или иное время, учитывая, что появляются новые антибиотики, а прежние выходят из употребления из-за

развития резистентности у бактерий, обнаруженной токсичности или нежелательного взаимодействия препарата [81,102, 126,157].

А в случае отсутствия однозначных причин в пользу выбора того или иного антибактериального препарата рекомендуется использовать препарат по наиболее доступной цене, пусть даже стоимость приобретения антибиотиков не является основополагающей частью затрат на лечение больных диабетической стопой [18,79].

Тем не менее, ряд исследователей утверждают острую необходимость в проведении сравнительных исследований и экономического анализа различных видов антибактериальной терапии у больных гнойно-некротическими поражениями стоп на фоне сахарного диабета [74,78, 97,184].

1.3. Клинические эффекты макролидов

Макролиды используются в клинической практике более 50 лет, зарекомендовав себя в качестве высокоэффективных и безопасных препаратов. История макролидов началась в 1952 г., когда был получен первый природный антибиотик этой группы - эритромицин (метаболит *Streptomyces erythreus*). Дальнейшая разработка шла путем изменения размеров лактонного кольца и боковых цепей с целью получения новых лекарственных средств с более высокой кислотоустойчивостью, биодоступностью и минимальным мотилиноподобным действием. Данный процесс сопровождался и расширением спектра активности *in vitro* создаваемых антибиотиков. Благодаря высокой эффективности макролидов возможно уменьшение кратности приема и, в ряде случаев, сокращение продолжительности лечения, что повышает комплаентность к терапии [5,13,20].

Механизм антимикробного действия макролидов обусловлен нарушением синтеза белка на этапе трансляции в клетках чувствительных микроорганизмов. Молекула антибиотика способна обратимо связываться с каталитическим пептидил-трансферазным центром (P-site) рибосомальной 50S-субъединицы и

вызывать отщепление комплекса пептидил-тРНК (представляющего собой растущую пептидную цепь) от рибосомы. При этом нарушается цикличность последовательного присоединения пептидной цепи к пептидил-трансферазному центру (P-site) и акцепторному аминоксил-тРНК-центру (A-site) 50S-субъединицы, то есть, ингибируются реакции транслокации и транспептидации. В результате приостанавливается процесс формирования и наращивания пептидной цепи. Связывание макролидов с 50S-субъединицей возможно на любой стадии рибосомального цикла [73,187].

Характер антимикробного действия макролидов обычно является бактериостатическим. Тем не менее, в определенной степени он зависит от концентрации антибиотика в очаге инфекции, вида микроорганизма, фазы его развития и степени микробной обсемененности. В высоких концентрациях (в 2-4 раза превышающих МПК) и особенно в отношении тех микроорганизмов, которые находятся в фазе роста, макролиды могут оказывать бактерицидное действие. Подобным образом они действуют на β -гемолитический стрептококк группы А [121,141]. В то же время, против золотистого стафилококка макролиды в большинстве случаев проявляют бактериостатический эффект[42].

Анализируя спектр антимикробной активности, где «золотым стандартом» среди антибиотиков класса макролидов является эритромицин, можно отметить его высокую активность, прежде всего, против грамположительных кокков, таких, как β -гемолитический стрептококк группы А (*S.pyogenes*), пневмококк (*S. pneumoniae*), золотистый стафилококк (*S.aureus*), исключая метициллинорезистентные штаммы последнего.

Эритромицин умеренно активен против гемофильной палочки (*H.influenzae*), боррелий (*B.burgdorferi*) и некоторых бактериоидов, включая *B.fragilis*. В то же время, он практически не действует на грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas spp.* и *Acinetobacter spp.*, поскольку не проникает через оболочку клеток данных микроорганизмов[123].

Другие макролиды, имея в целом сходство по спектру и выраженности антимикробной активности с эритромицином, обладают некоторыми отличительными особенностями. С практической точки зрения представляет интерес сопоставление их эффекта в отношении следующих категорий микроорганизмов (табл. 7) [189]:

1. Активность против быстро размножающихся пиогенных кокков, чувствительных, как правило, к β -лактамам (особенно, к бензилпенициллину) и эритромицину: стафилококков, стрептококков, энтерококков, гонококков и анаэробных кокков;

2. Активность против грамотрицательных бактерий, резистентных к бензилпенициллину и эритромицину, таких, как *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas spp.*; к этой категории может также быть отнесен *H.influenzae*, поскольку вопрос о его чувствительности к эритромицину остается дискуссионным, а также грамотрицательные анаэробы;

3. Активность против микроорганизмов, не входящих ни в одну из перечисленных групп.

Кларитромицин превосходит другие макролиды по действию на *S.pyogenes*, *S.aureus* (чувствительного к метициллину). Тем не менее, метициллинорезистентные штаммы *S.aureus* устойчивы к любым макролидам. Согласно данным Bauernfeind (1993), кларитромицин проявляет также наиболее выраженный, по сравнению с другими препаратами, эффект против стрептококков группы А и группы В (*S.agalactiae*) [65,75]. Также высокая активность отмечена против анаэробных кокков, штаммы которых проявляли наибольшую чувствительность к кларитромицину [65].

Таблица 7 - Сравнительная активность (МИК90 мг/л) макролидов в отношении различных микроорганизмов (Peters D.H., 1997)

Микроорганизмы	Макролид			
	Эритромицин	Азитромицин	Рокситромицин	Кларитромицин
А. Грамположительные				
Corynebacterium spp.	>39	128	>45	15*
Listeria monocytogenes	0,72	2,8	1,3	0,58*
Streptococcus Group A	<0,63	1,09	2,6	<0,33*
Streptococcus Group B	<0,14	0,34	0,33	<0,12*
Streptococcus pneumoniae	0,39	1,21	0,31	<0,21*
Б. Грамотрицательные				
Bordetella pertussis	0,03	0,06	0,11	0,02*
Campylobacter jejuni	2,3	0,12*	4	6
Helicobacter pylori	0,25	0,25	0,25	0,03*
Haemophilus influenza	8	2,8*	24	9
Legionella spp.	0,49	2	0,31	<0,12*
Neisseria meningitidis	5,6	2*	3	2,7

Примечание. * - Приоритет среди сравниваемых макролидов

Многим макролидам присущ постантибиотический эффект, под которым понимается персистирующее ингибирование жизнедеятельности бактерий после их кратковременного контакта с антибактериальным препаратом [80]. В основе эффекта лежат необратимые изменения в рибосомах микроорганизма, следствием чего является стойкий блок транслокации. За счет этого общее антибактериальное действие препарата усиливается и пролонгируется, сохраняясь в течение срока, необходимого для ресинтеза новых функциональных белков микробной клетки (табл.8)[66].

Таблица 8 - Сравнительная длительность постантибиотического эффекта макролидов против пневмококка (FuurstedK. etal. 1997)

Препарат	Средняя длительность, час	Диапазон, час
Эритромицин	3,5	3,20 – 3,78
Азитромицин	2,83	2,56 – 3,10
Рокситромицин	3,13	2,91 – 3,35
Кларитромицин	3,6	3,31 – 3,90

Некоторые макролиды обладают, так называемым, «постантибиотическим суб-МПК эффектом», свидетельствующим о том, что ингибирующее влияние антибиотиков на микроорганизмы сохраняется и после снижения их концентраций в сыворотке крови или месте локализации инфекции ниже минимальной подавляющей [121].

Постантибиотический суб-МПК эффект макролиды могут демонстрировать *in vitro* и *in vivo* даже в отношении устойчивых к ним микроорганизмов [90,105]. Так, при длительном воздействии в суб-МПК концентрации кларитромицин оказывают бактерицидный эффект на *P.aeruginosa*, особенно мукоидные штаммы.

В то же время, другие макролиды (олеандомицин, джозамицин), а также такие мощные антисинегнойные препараты, как цефтазидим и тобрамицин, не обладают подобной активностью [142].

Таким образом, предполагается, что длительная терапия макролидами ивидоизменяет характер взаимодействия патогена с макроорганизмом, трансформируя его из инфекции в относительно доброкачественную колонизацию. А у некоторых больных при этом наблюдается эрадикация возбудителя.

С феноменом "трансформации инфекции в колонизацию" может быть связано нередко наблюдаемое при длительном применении макролидов более быстрое улучшение клинических и лабораторных показателей по сравнению с бактериологическими параметрами [87].

Ведущей причиной недостаточной эффективности проводимого лечения является наличие у микроорганизмов действенных механизмов защиты от внешних повреждающих факторов, в том числе, антибактериальных препаратов.

В настоящее время признано, что более 90 % бактерий существуют в природных экосистемах не в виде отдельных планктонных клеток, а в виде прикрепленных к субстрату биопленок (biofilms) [7,10,63]. По данным американских Центров контроля и профилактики заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), до 65 % всех бактериальных инфекций человека протекают с образованием биопленок [84].

Биопленка – микробное сообщество, в котором клетки прикреплены к поверхности или друг к другу, заключены в матрикс синтезированных ими внеклеточных полимерных веществ и демонстрируют изменение фенотипа, выражающееся в изменении параметров роста и экспрессии специфичных генов [88]. Она формируется вследствие избыточной продукции некоторыми микроорганизмами альгината – экзополисахаридной капсулы, состоящей из D-маннуроновой и L-гиалуроновой кислот. Биопленка связывает клетки, органические и неорганические субстраты, повышает адгезию бактерий к эпителию и защищает их от воздействия антисептиков и антибиотиков.

Выделяют 5 стадий развития биопленки:

I. Стадия первичного прикрепления микроорганизмов или адгезия.

II. Стадия фиксации.

III. Стадия созревания – клетки, прикрепившиеся к поверхности, облегчают прикрепление последующих клеток, внеклеточный матрикс удерживает вместе всю колонию; накапливаются питательные вещества, клетки начинают делиться.

IV. Рост – образована зрелая биопленка; внеклеточный матрикс служит защитой клеток от внешних угроз.

V. Дисперсия (выброс бактерий) – в результате деления периодически от биопленки отрываются отдельные клетки, способные через некоторое время прикрепиться к поверхности и образовать новую колонию [25].

Биопленки замедляют процесс заживления ран. В биоптатах хронических ран они обнаруживаются в 60 % случаев, а в биоптатах свежих ран – только в 6 % [69]. Биопленки могут разрушаться механическим воздействием, но в течение 24 ч из оставшихся в ране колоний микроорганизмов может сформироваться новая зрелая биопленка [135].

Биопленки могут снижать чувствительность бактерий к антибактериальным средствам в 100–1000 раз [68,160]. В составе биопленок бактерии приобретают качественно новые свойства по сравнению с микроорганизмами в планктонной форме. Поэтому, в настоящее время лечение инфекций, ассоциированных с биопленками, является одной из актуальнейших проблем [8,68]. По последним данным, макролиды (кларитромицин и азитромицин) в субингибирующих концентрациях способны снижать продукцию альгината (фактор вирулентности, обеспечивающий адгезию бактерий на биологических поверхностях) и подвижность *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus mirabilis*, тем самым, уменьшая степень колонизации и формирования биопленок [16].

G. Steinkamp et al. и изучили клинический и иммуномодулирующий эффект азитромицина, применяемого один раз в неделю, после проведения двухнедельного курса антибактериальной противосинегнойной терапии. В двойном слепом исследовании 38 пациентов получали либо плацебо (17 человек), либо азитромицин (21 человек) в течение 8 недель. Доза азитромицина: 20–29 кг — 500 мг; 30–39 кг — 750 мг; 40–49 кг — 1000 мг; > 50 кг — 1250 мг. После лечения LPS-связанный белок, С-реактивный белок и синегнойный альгинат были значительно повышены в группе плацебо ($p < 0,0001$, $p < 0,021$, $p < 0,017$). Функциональные показатели легких одинаково снизились в обеих группах. Таким образом, 8-недельный курс азитромицина

привел к снижению провоспалительных маркеров по сравнению с нелеченой группой больных муковисцидозом [52,95].

Y. Nalca[et al.] (2006) свидетельствуют, что было изучено влияние азитромицина на профиль транскрипции генов и экспрессии белков в культурах PAO1 *P.aeruginosa* в сравнении с контрольными культурами, не подвергавшимися воздействию антибиотика. Наиболее неожиданным наблюдением явилась способность азитромицина подавлять у синегнойной палочки межклеточную сигнальную систему quorum sensing (механизм, который следит за плотностью клеток бактериальной популяции и отвечает за контроль продукции многих внеклеточных факторов патогенности, что обеспечивает бактериям преодоление защитных сил макроорганизма при инфекции). В результате подавления quorum sensing снижалась продукция факторов вирулентности бактерий, кроме того, ухудшалась ответная реакция микроорганизмов на оксидативный стресс, в то время как значительно активировалась система секреции III типа. Помимо этого, под воздействием азитромицина уменьшалась подвижность *P.aeruginosa*, что, возможно, и приводило к нарушению формирования биопленки, отмеченному в более ранних исследованиях [151].

Способность азитромицина влиять на quorum sensing-зависимую продукцию факторов вирулентности, формирование биопленки и устойчивость к оксидативному стрессу открывает новые перспективы для использования макролидов в терапии муковисцидоза.

В связи с указанными эффектами макролидов, вероятно, следует обратить большее внимание на возможность их применения в лечении пациентов с хроническими инфекциями, вызванными синегнойной палочкой.

Длительное применение азитромицина пациентами с муковисцидозом, имеющими хроническую инфекцию *P.aeruginosa*, улучшает легочную функцию и рекомендовано Thomas F. Boat, James D. Acton в учебнике Nelson Textbook of Pediatrics[140].

Кроме того, существует несколько групп системных антибактериальных препаратов, эффективность которых повышается при добавлении кларитромицина благодаря его способности разрушать биопленки:

1. фторхинолоны (офлоксацин, левофлоксацин);
2. гликопептиды (ванкомицин);
3. цефалоспорины (цефазолин, цефуроксим, цефотиам, цефтазидим);
4. карбапенемы (имипенем/циластатин).

В отличие от других антимикробных препаратов, макролиды оказывают не только антибактериальное действие, но и обладают целым рядом неантибактериальных эффектов, среди которых наиболее изучены в эксперименте и доказаны в клинических условиях противовоспалительный и иммуномодулирующий эффект [172].

Наличие указанных эффектов придает макролидам, в частности, кларитромицину, уникальность. Данные эффекты макролидов наиболее изучены при лечении больных с бронхолегочными инфекциями [99]. Однако, учитывая особенности течения раневого процесса при сахарном диабете, проявляемые эффекты препаратов группы макролидов могут открыть новые перспективы в оптимизации лечения у данной категории пациентов.

Так, благодаря своей способности проникать внутрь нейтрофилов и создавать в них высокие концентрации, многие макролиды позитивным образом модифицируют функции данных клеток, влияя, в частности, на хемотаксис, активность фагоцитоза и киллинга.

Предполагается существование двух механизмов взаимодействия макролидов с нейтрофилами, которые благоприятно отражаются на конечном эффекте. Во-первых, отмечается прямой синергизм между бактерицидным действием нейтрофилов и антибактериальной активностью макролидов. Во-вторых, имеет место непрямой синергизм, то есть, снижение вирулентности бактерий при низких концентрациях макролидов, что ведет к повышению активности нейтрофилов [42].

При применении 14-членных макролидов, являющихся производными эритромицина А, происходит ингибирование окислительного «взрыва» и, следовательно, уменьшение образования высокоактивных окисляющих соединений – «оксидант», непосредственно осуществляющих «киллинг». За модификацию данной функции нейтрофилов отвечает L-кладиноза - углевод, являющийся компонентом структуры всех производных эритромицина А.

Поэтому, олеандомицин и 16-членные макролиды, не содержащие L-кладинозу, подобным действием не обладают[119]. Несмотря на то, что под влиянием эритромицина, рокситромицина, диритромицина и эритромициламина происходит ингибирование окислительного «взрыва», бактерицидная активность нейтрофилов при этом не уменьшается[120].

Еще одним важным проявлением биоактивности 14- и 15-членных макролидов является стимулирующее влияние на экзоцитоз нейтрофилов. Предполагается, что благодаря этому свойству антибиотики могут противостоять способности некоторых микроорганизмов ингибировать фаголизосомальную функцию[82].

Хорошо известны данные о противовоспалительном действии 14-членных макролидов, не связанном с блокадой простаноидного пути воспаления или эрадикацией возбудителя. Данное свойство, в частности, связывают с антиоксидантной способностью (14-членные макролиды способны снижать образование супероксидного иона кислорода), а также со снижением активности ферментных систем циклооксигеназы или липидооксигеназы клеток. Противовоспалительному действию макролидов придается в настоящее время крайне важное значение, причем, это считается настолько значимым с клинической точки зрения, что создаются иммуотропные макролидные соединения (12-членные), вообще не проявляющие антимикробной активности, но при этом обладающие противовоспалительной активностью.

Так, эритромицин при местном применении предупреждает развитие острых воспалительных реакций у мышей, вызванных кротоновым маслом, кантаридином и другими веществами[82]. Кроме того, он ослабляет

выраженность воспаления при экспериментальном перитоните, вызванном зимозаном [173]. У больных бронхиальной астмой эритромицин снижает повышенную реактивность бронхов, ослабляя, в частности, бронхоспастическую реакцию на гистамин[93]. По данным пилотного исследования, длительное (до 8 недель) назначение эритромицина в низких дозах пациентам с бронхоэктазами снижает продукцию мокроты и уменьшает в ней число лейкоцитов, не влияя на ее бактериальный состав. Это сопровождается существенным улучшением показателей функции внешнего дыхания больных[132]. В ряде экспериментальных исследований с рокситромицином, его противовоспалительный эффект был сопоставим с таковым нимесулида [21].

Противовоспалительное действие макролидов в первую очередь связывают с их антиоксидантными свойствами. Как отмечено выше, способность ингибировать окислительный «взрыв» обнаружена у эритромицина, рокситромицина, диритромицина, эритромициламина. Кроме того, эритромицин, спирамицин, рокситромицин и кларитромицин влияют на выработку цитокинов [72,168]. Еще одним механизмом может быть увеличение эндогенной продукции глюкокортикоидов. По данным японских ученых, у животных отмечается 4-кратное увеличение уровня глюкокортикоидов в сыворотке крови после введения 14-членных макролидов (эритромицин, кларитромицин). Поскольку при предварительном введении дексаметазона этот эффект не отмечался, сделан вывод о том, что в основе повышения сывороточного уровня гормонов лежит активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Применение 16-членных макролидов такого эффекта не вызывало[101].

В клинических наблюдениях выявлено увеличение хемотаксиса нейтрофилов под влиянием эритромицина и повышение показателей фагоцитоза в них при использовании эритромицина, рокситромицина и кларитромицина. Также отмечено влияние макролидов на синтез медиаторов воспаления макрофагами и моноцитами. Так, спирамицин вызывает

значительное увеличение продукции интерлейкина-6, рокситромицин посредством повышения синтеза интерлейкина-4 спленоцитами мышей (противовоспалительный медиатор) подавляет продукцию стимулированными моноцитами интерлейкина-1, интерлейкина-2, фактора некроза опухолей (провоспалительные медиаторы) и простагландина E2 [56,58,137].

Описано снижение интерлейкина-8 стимулированными моноцитами и альвеолярными макрофагами под влиянием эритромицина, снижение синтеза фактора некроза опухоли альфа, интерлейкина-1, антагониста рецепторов интерлейкина-1 и колониестимулирующего фактора гранулоцитов-макрофагов (провоспалительный медиатор) при явном возрастании синтеза интерлейкина-10 (противовоспалительный медиатор) под влиянием кларитромицина [144,171].

Противовоспалительная активность также отмечена при лечении больных с диффузным панбронхиолитом, вызванном *P.aeruginosa*. Выявлено, что макролиды снижают концентрацию иммунных комплексов в сыворотке крови, тормозят выработку альгината микроорганизмом *in vitro* и ослабляют реакцию антиген-антитело, инициируемую альгинатом, как *in vitro*, так и *in vivo*. Такой способностью обладают только 14- и 15-членные макролиды [104].

При применении 14- и 15-членных макролидов отмечено повышение активности Т-киллеров и усиление фагоцитарной активности, а также увеличение миграции макрофагов в очаг воспаления [131]. Макролиды восстанавливают баланс Т-хелперов различных типов и поддерживают их функции. Указанный эффект имеет большое значение для регуляции синтеза провоспалительных цитокинов, уменьшая прессинг на клетки хозяина, снижая отек и препятствуя формированию застойной лимфоцитарной индукции [62,122].

Таким образом, макролиды, история клинического применения которых насчитывает уже более шестидесяти лет, представляют собой один из наиболее интересных и перспективных классов антибиотиков.

Уникальность в первую очередь определяется хорошими фармакокинетическими свойствами, наиболее важным из которых является хорошее проникновение во многие ткани и органы, а также хороший профиль безопасности.

Следует помнить, что наряду с антимикробным эффектом макролиды обладают иммуномодулирующей и противовоспалительной активностью, проявляют постантибиотическое действие. Можно согласиться с О.И. Карповым (2005), что открытие позитивного воздействия макролидов на угнетенные звенья иммунитета является прорывом в науке и дает этим антибиотикам, по словам А.И. Синопальникова (2004), «второе дыхание».

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Экспериментальные исследования

Эксперименты на животных проводились в виварии ЦНИЛ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Операции и все манипуляции с животными проводились с использованием общего обезболивания, регламентируемого приложением №8 («Правила гуманного обращения с лабораторными животными») «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клеток (вивариев)» (№ 1045-73), а также приказом № 724 от 1984 г. Министерства высшего образования СССР «Правила проведения работ с экспериментальными животными».

Исследования проводились в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000г.), директивы Европейского сообщества (86/609 ЕС) и Правил лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Протокол исследования одобрен на заседании этического комитета ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России от «06» ноября 2015 года (протокол №5).

2.1.1. Материалы исследований

Опыты проведены на 75 белых крысах-самцах, линии Wistar, массой 200 - 220г. Лабораторным животным были сформированы модели аллоксанового диабета и модель полнослойной плоскостной кожной раны спины. На всем протяжении эксперимента рана оставалась открытой, местное лечение раны не проводилось. Животные содержались в индивидуальных клетках. В связи с поставленной целью, крысы были разделены на три группы по 25 крыс в каждой: **1 группа – контрольная** – самостоятельное заживление раневого

дефекта; **2 группа – опытная 1**, животные получали внутримышечные инъекции препарата кларитромицин (Клацид, Abbott France (Франция)) по установленной схеме (150 мг/кг/сут. в течение 10 суток). **Группа номер три – опытная 2**, крысы которой получали внутримышечные инъекции препарата цефтриаксон (Цефтриаксон Каби, Фрезениус каби (Португалия)) по схеме 50 мг/кг/сут., в течение 10 суток. Инфицирование раны происходило самостоятельно в ходе нахождения животного в клетке.

Животные выводились из опыта на 3-й, 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день эксперимента по пять особей из каждой группы.

2.1.2. Метод моделирования сахарного диабета

Для экспериментального моделирования гипергликемии, обусловленной абсолютной недостаточностью инсулина в организме, и других нарушений метаболизма, характерных для сахарного диабета 1 типа, использовали разрушение β -клеток островков Лангерганса введением Аллоксана (уреид мезоксалевой кислоты).

Основным механизмом деструктивного действия аллоксана является генерация в циклической реакции с гиалуроновой кислотой активных форм кислорода, которые инициируют разрушение β -клеток, имеющих низкую антиоксидантную защиту [125].

Разрушение β -клеток этими соединениями вызывает снижение синтеза и секреции в кровь инсулина, в результате чего у животных развиваются гипергликемия и диабетический синдром, аналогичный инсулинозависимому сахарному диабету 1 типа [51,125].

Аллоксановый СД моделировали однократным внутрибрюшным введением раствора аллоксана гидрата (Индия) в 0,4 мл цитратного буфера в дозе 170 мг/кг массы тела [98]. Выбор этой модели обусловлен тем, что именно она является базовой при доклиническом изучении лекарственных средств

[124]. Животные предварительно голодали в течение 24 ч при свободном доступе к воде.

Эксперимент начинали в острой фазе действия аллоксана – через 3 суток, когда разрушение β -клеток поджелудочной железы достигает максимума [94].

2.1.3. Обезболивание подопытных животных

Обезболивание лабораторных крыс осуществляли по схеме: 3 мг золетила, 0,8 мг ксиланита, 0,02 мл - 0,1 % раствора атропина на 100 г веса животных. Наступление наркоза устанавливали по угнетению роговичного рефлекса и отсутствие реакции на болевые раздражители.

2.1.4. Метод моделирования ран

Моделирование полнослойных кожных ран осуществляли с целью изучения течения раневого процесса на фоне абсолютной инсулиновой недостаточности.

Для воспроизведения модели плоскостной полнослойной кожной раны спины у крыс под наркозом выстригали шерсть и подшерсток в области середины спины. Операционное поле последовательно обрабатывали однократно 5% спиртовым раствором йода и 70% этиловым спиртом, после чего по специальному трафарету вырезали кожный лоскут площадью 400 мм^2 , удаляя также подкожную жировую клетчатку (рис. 1).



Рисунок 1 - Вид раневого дефекта после формирования модели полнослойной плоскостной кожной раны размерами 400 мм^2

Дефекты кожи оставляли открытыми на протяжении всего периода наблюдения. Инфицирование ран происходило самостоятельно в ходе нахождения крысы в клетке. На 2-е сутки после операции поверхность дефектов кожи у крыс покрывалась тонким струпом, образованным раневым отделяемым. При взятии животных в руки корочка легко повреждалась, просачивался экссудат. У всех животных регистрировалось время полного заживления ран. Для оценки течения раневого процесса применяли планиметрический метод исследования, а также бактериологический, цитологический и иммунологический анализы в указанные сроки.

2.1.5. Определение уровня глюкозы крови экспериментальных животных

Для контроля уровня глюкозы производили забор крови из кончика хвоста. Определение производили стандартным электрохимическим методом с помощью глюкометра «One Touch Ultra Easy» (LifeScanJohnson&Johnson, США.).

2.2. Клиническая работа

Работа выполнена в дизайне проспективного рандомизированного сравнительного исследования с параллельной группой. В исследование были включены пациенты с сахарным диабетом и синдромом диабетической стопы, находившиеся на стационарном лечении в отделении гнойной хирургии ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Рязань (зав. отделением Кумахов В.Т.) в период с сентября 2015 года по май 2017 года. Пациенты были распределены по группам методом случайной выборки.

2.2.1. Общая характеристика групп больных

В период с 2015 по 2017 гг. на базе отделения гнойной хирургии БСМП г. Рязани проведено комплексное обследование и лечение 65 пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, синдромом диабетической стопы, нейропатической и нейроишемической формами (без критической ишемии).

На момент поступления в стационар у всех пациентов имелась инфекция диабетической стопы, что требовало проведение антибактериальной терапии.

Всем пациентам была проведена хирургическая обработка раневого дефекта, которая заключалась во вскрытии гнойника, малых ампутациях в пределах переднего отдела стопы, удаление некротизированной ткани. Объем хирургического вмешательства определялся индивидуально для каждого конкретного больного.

После выполнения хирургического вмешательства, пациенты были распределены на группы методом случайной выборки, в зависимости от подхода к антибактериальной терапии.

Первую группу составили пациенты, получавшие **эмпирическую антибактериальную терапию** с учетом рекомендаций МРГДС (2015г.) [53,97].

Во вторую группу были включены пациенты, получавшие **комбинированную антибактериальную терапию**, в которую входил антибактериальный препарат группы макролидов – кларитромицин (Клацид, Abbott France (Франция)) в суточной дозе 1000 мг, внутривенно на протяжении 10 дней.

Проводимое местное лечение в группах не различалось, адьювантные методы лечения в группах пациентов не использовались.

Таким образом, представляет интерес изучить неантибактериальные эффекты макролидного антибактериального препарата по сравнению со стандартной антибактериальной терапией у пациентов с инфекцией диабетической стопы.

Обследование включало в себя осмотр, анализ клинико-anamнестических данных, результатов лабораторно-инструментальных, бактериологических, а также цитологических исследований.

Всеми пациентами было подписано информированное согласие на проведение того или иного метода лечения.

Протокол исследования одобрен на заседании этического комитета ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России от «06» ноября 2015 года (протокол №5).

Критерии включения:

1. Сахарный диабет 1 и 2 типа.
2. Возраст от 20 до 80 лет.
3. HbA1c < 12%
4. Синдром диабетической стопы нейропатическая или нейроишемическая форма с наличием гнойно-некротических поражений на стопе.

Критерии исключения:

1. Возраст < 20 и > 20 лет.
2. HbA1c > 12%
3. Поражение 0, I и V степеней по Вагнеру
4. Острое нарушение мозгового кровообращения или острый инфаркт миокарда давностью менее 6 месяцев.
5. Гемодинамически значимое поражение магистральных артерий нижних конечностей.
6. Онкологические заболевания.
7. Наличие аутоиммунных заболеваний с коррекцией кортикостероидами.
8. Психические расстройства.

2.3.Методы исследования

В соответствии с поставленными задачами, пациентам проводились следующие клинические исследования:

1. Общеклиническое обследование. Оценивались жалобы, анамнез, особенности течения основного заболевания, а также наличие и степень тяжести сопутствующих заболеваний.
2. Осмотр нижних конечностей, оценка состояния кожных покровов, наличие отеков, оценка периферической полинейропатии, оценка степени раневого дефекта по Wagner, измерении площади и глубины раневого дефекта, оценка выраженности инфекционного процесса.
3. Оценка состояния артериального кровотока в артериях нижних конечностей (ультразвуковое дуплексное сканирование артерий).
4. Общеклинический анализ крови, биохимический анализ крови. Оценка состояния углеводного обмена (гликированный гемоглобин, липидный профиль).
5. Бактериологический анализ раневого отделяемого.
6. Забор мазков-отпечатков ран.
7. Световая микроскопия мазков отпечатков.
8. Иммунологический анализ (определение бактериального фагоцитоза с оценкой степени завершенности (Нестерова И.В., 1996); спонтанный и стимулированный NBT-тест).

2.3.1. Лабораторные методы исследования

Все лабораторные исследования образцов крови проводились по стандартным методикам на базе клинической и лабораторной диагностики ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» МЗ РФ (зав. отделением Донюкова С.П.).

Биохимический анализ крови производился на автоматическом биохимическом анализаторе Architect plus C 4000 (Abbott Diagnostics, США) фотометрическим методом по стандартным методикам.

Состояние углеводного обмена оценивали по уровню глюкозы крови, глюкозы и ацетона мочи и по уровню HbA_{1c}. Пробы крови брали путем пункции ногтевой фаланги пальца по часам (4-6 раз в день).

В биохимическом анализе крови оценивался липидный профиль (холестерин общий, липопротеиды низкой и высокой плотности, триглицериды), содержание креатинина, мочевины, электролитов, общего белка крови.

2.3.2. Инструментальные методы исследования

Оценка дистальной полинейропатии

Вибрационная чувствительность оценивалась при помощи градуированного камертона (128 Гц) в проекции костных выступов: верхушка I пальца, медиальная поверхность I плюсне-фалангового сустава, медиальная лодыжка, бугристость большеберцовой кости.

Температурная чувствительность оценивалась при помощи прибора «тип-терм» (цилиндр, одно из оснований которого выполнено из металла, другое – из пластика, вследствие чего прикосновение разных сторон цилиндра ощущается по-разному).

Тактильная чувствительность оценивалась при помощи монофиламента калибра 5,07 (сгибается под действие силы массой в 10г) на подошвенной поверхности стопы в области дистальной фаланги I пальца, а также в проекции головок I и V плюсневых костей.

Количественная оценка выраженности симптомов нейропатии проводилась в соответствии с модифицированной шкалой Нейропатический Дисфункциональный счет (НДСм). Для этого учитывались полученные данные

тактильной, температурной и болевой чувствительности на уровне тыльной поверхности большого пальца. В дальнейшем для каждого вида нарушения чувствительности высчитывалась средняя величина баллов по двум ногам (правая нога + левая нога) / 2. Сумма средних величин полученных данных составляла модифицированную шкалу НДС.

НДСм от 0 до 1 балла – отсутствие периферической нейропатии, **от 2 до 4 баллов** – умеренно выраженная нейропатия и **> 5 баллов** – выраженная периферическая нейропатия.

Ультразвуковая доплерография сосудов нижних конечностей

Оценивали кровоток по тыльным артериям стопы, передним и задним большеберцовым артериям.

Допплерографию сосудов нижних конечностей выполняли с использованием аппарата Accuvix XG (USS-AVXGC30/RU), ультразвуковых датчиков 5,0 и 12,0 МГц.

На базе ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (к.м.н. Инютин А.С.) исследование выполняли в серошкальном режиме и цветовом доплеровском картировании. Определялись следующие показатели: линейная скорость кровотока V_{max} , оценка степени стеноза (%), тип кровотока (Магистральный, магистрально изменённый, коллатеральный).

2.3.3. Планиметрические методы исследования

Для определения площади раны использовали тест Л.Н. Поповой (1942). На рану помещается стерильная пластинка целлофана и на нее наносится контур раны. Рисунок переносится на миллиметровую бумагу и подсчитывается площадь раны.

Скорость заживления раневых дефектов вычисляли по формуле (Фенчин К.М. и Навакатинян О.А., 1979):

$$Y=100*S_0-S_t/ S_0$$

где S_0 – величина площади раны при предшествующем измерении; S_t – площадь раны на день t .

2.3.4. Цитологическое исследование

Цитологические исследования выполнены на базе клинической и лабораторной диагностики ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» МЗ РФ (зав. отделением Донюкова С.П.).

Динамику течения патологического процесса оценивали путем исследования мазков-отпечатков по методу М.В. Покровской, М.С. Макарова в модификации Д.М. Штейнберга (1948).

После удаления раневого отделяемого стерильной салфеткой, не содержащей антисептических растворов, стерильное предметное стекло прикладывалось к поверхности раневого дефекта, при этом клетки поверхностного слоя язвенного дефекта оставались на стекле. Затем препарат фиксировали на воздухе и окрашивали по Романовскому–Гимзе. При анализе мазков-отпечатков определяли основные клеточные элементы, их процентное содержание, наличие дегенеративных элементов и количество свободно лежащих микробных тел. Особое внимание уделялось количеству нейтрофильных гранулоцитов ответственных за фагоцитоз, дегенерирующих лейкоцитов, характеру и интенсивности фагоцитоза. Обнаруживаемые при этом изменения определяются стадией раневого процесса и были классифицированы как один из 6 типов цитограмм по Штейнбергу.

Характер фагоцитоза определяли, как:

1. **Завершенный**, когда фагоцитоз заканчивается полным уничтожением поглощенных микробов, подавляющее большинство которых находится внутриклеточно в различной фазе переваривания.
2. **Незавершенный**, когда большое количество микробов как вне, так и внутриклеточно, но лишь в начальной стадии переваривания.
3. **Дегенеративный**, когда в нейтрофильных гранулоцитах обнаруживается большое количество микробных тел, высокая вирулентность которых

обуславливает гибель фагоцитов. В отпечатке большое количество микроорганизмов, располагающихся внеклеточно и множество погибших нейтрофилов.

Интенсивность фагоцитоза определяли фагоцитарной активностью (% фагоцитирующих нейтрофильных гранулоцитов).

Оценка микробной обсемененности раны проводилась следующим образом:

- «-» —микробиота не обнаружена;
- «+ - » —единичные микробы в различных местах препарата;
- «++» —немногочисленные разрозненные микробы в большинстве полей зрения;
- «+++» —обильная микробиота, локализуемая в виде скоплений или равномерно покрывающая весь препарат.

При цитологическом исследовании для объективизации течения раневого процесса рассчитывали клеточный индекс по формуле:

$$\text{Клеточный индекс} = \frac{\text{макрофаги+фибробласты+полибласты}}{\text{гранулоциты+лимфоциты}}$$

Клетки, расположенные в числителе, характеризуют репаративные процессы, а в знаменателе – выраженность воспалительных процессов. Чем меньше индекс, тем более выражены воспалительные процессы в ране.

Полученные препараты изучали в биологическом микроскопе при увеличении объектива в 100 раз, одновременно проводили фотосъемку с помощью цифровой камеры Olympus DP22.

2.3.5. Бактериологическое исследование

Бактериологические исследования проведены на базе ГБУ РО «Консультативно-диагностический центр» МЗ РФ (зав. лабораторией Пискарева О.В.).

Забор биоптатов из раны выполняли после ее очистки, удаления детрита, что признается наиболее адекватным методом для выделения возможных патогенов, определения количественной оценки обсемененности с определением антибиотикорезистентности микроорганизмов. При получении биоптатов придерживались асептической техники. Забор и транспортировка материала осуществлялась в течение 8 часов в коммерческих транспортных средах, которые обеспечивают жизнеспособность и неизменность количественного состава нетребовательных к условиям культивирования бактерий в образце в течение 24 – 48 часов.

Идентификация и определение антибиотикорезистентности микроорганизмов проводились на автоматизированном микробиологическом анализаторе «iEMS-Reader» («TERMO-Labsystems», Финляндия) с использованием системы мультимикротестов, программных продуктов «BACT» и «IDENT», «Журналмикробиолога».

2.3.6. Иммунологическое исследование

Для оценки биоцидности НГ выполнялся забор крови из кончика хвоста животных на 3-е, 7-е и 10-е сутки эксперимента. Для достижения поставленных целей определяли бактериальный фагоцитоз, оценивали его степень завершенности, а также оценивали кислородзависимую биоцидность НГ с помощью классического NBT-теста.

Определение бактериального фагоцитоза с оценкой степени завершенности (Нестерова И.В., 1996)

На середину хорошо обезжиренного стекла наносили 20 мкл крови, добавляли 10 мкл гепарина, 10 мкл. мясо-пептонного бульона и 10 мкл микробной взвеси лабораторного штамма № 209 *St. aureus* на физ. растворе в концентрации 1×10^6 в мл. Инкубировали в термостате во влажной камере в течение 120 минут при 37°C. Мазки сушили, фиксировали в метаноле в течение 5 минут и окрашивали по Романовскому в течение 5-10 минут. Промывали в

дистиллированной воде, сушили, микроскопировали под иммерсией в световом микроскопе. При этом оценивали поглотительную способность и переваривающую функцию фагоцитов и завершенность фагоцитарного акта.

1. **Процент фагоцитоза (%НГ)** – процент НГ, поглотивших микробы, из общего числа посчитанных нейтрофилов;

2. **Функциональная активность НГ**

- %ФАН число нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз
- ФАНабс

3. **Поглотительная способность НГ**

- Фагоцитарное число (ФЧ) – среднее число фагоцитированных микробов, приходящееся на 1 «активный» НГ (ФАН)

$$\text{ФЧ} = \frac{\text{общее число поглощенных нейтрофилами микробов}}{\text{число нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз}}$$

- Фагоцитарный индекс (ФИ)

$$\text{ФИ} = \frac{\text{число нейтрофилов, вступивших в фагоцитоз}}{\text{общее число нейтрофилов}} * 100$$

4. **Завершенность фагоцитарного акта**

- Индекс переваривания (ИП)

$\text{ИП} = \frac{M_{уб}}{100}$, где $M_{уб}$ – среднее число убитых микробов на 1 посчитанный НГ (т.е. на 100).

- Процент переваривания (%П),

$$\text{Процент переваривания (\%П)} = \frac{M_{уб} * 100}{\% \text{ФАН}}$$

Оценка активности оксидазной микробиоцидной системы нейтрофилов

Для оценки кислородзависимой биоцидности НГ применяли классический NBT-тест. В качестве дополнительной антигенной нагрузки в стимулированном его варианте был использован штамм № 209 St. aureus.

Визуальная оценка цитохимических реакций проводилась с использованием принципа L.S. Kaplow (1955):

0-я степень - окрашено только ядро, цитоплазма не окрашена, не видно контуров гранул;

1-я степень - вся цитоплазма диффузно окрашена или окрашено не более 1/4 цитоплазмы;

2-я степень - в цитоплазме хорошо видны окрашенные гранулы, окрашено более 1/4 цитоплазмы;

3-я степень - всю цитоплазму занимают гранулы, но ядро свободно, окрашено 3/4 и более цитоплазмы;

4-я степень - гранулы занимают всю цитоплазму и наслаиваются на ядро.

Спонтанный NBT-тест (Нестерова И.В., 1996)

На середину хорошо обезжиренного предметного стекла помещали каплю крови в ЭДТА, добавляли 10 мкл гепарина (2 ед.), затем добавляли 10 мкл физиологического раствора и 10 мкл 0,1% раствора тетранитросинего тетразолия (NBT). Препарат инкубировали в термостате при 37°C в течение 15 минут. Излишек крови осторожно удаляли наклоном стекла под 45°, фиксировали в метаноле в течение 2 минут, подсушивали и докрашивали ядра 0,5% раствором нейтрального красного. Для оценки результатов подсчитывали клетки с восстановленным формазаном (% формазан позитивных клеток - %ФПК) по принципу L.S. Kaplow (1955).

Оценка микробиоцидной системы нейтрофильных гранулоцитов в нагрузочных тестах *in vitro* (стимулированный NBT-тест)

На середину хорошо обезжиренного предметного стекла помещали каплю крови, добавляли 10 мкл гепарина (2 ед.), затем 10 мкл *St. aureus* в концентрации 10^6 в 1 мл и 10 мкл раствора NBT. Препарат инкубировали в термостате при 37°C в течение 15 минут. Излишек крови осторожно удаляли наклоном стекла под 45°, фиксировали в метаноле в течение 2 минут, подсушивали и докрашивали ядра 0,5% раствором нейтрального красного.

Оценку результатов проводили аналогично спонтанного NBT-теста.

Кроме того, выводили коэффициент мобилизации (КМ) по отношению

$$\frac{\% \text{ формазан} - \text{ позитивных НГ в стимулированном } NBT - \text{ тесте}}{\% \text{ формазан} - \text{ позитивных НГ в спонтанном } NBT - \text{ тест}}$$

2.4. Статистические методы анализа данных

Статистическая обработка полученных данных была проведена с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft Inc.США, версия 10.0) и пакета программного обеспечения «MicrosoftExcel 2007». Для анализа нормальности распределения применяли критерии Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса. Для проверки значимости различий в группах применялся F-критерий в процедуре дисперсионного анализа ANOVA.

В случае распределений, отличающихся от нормального, применяли непараметрические методы для сравнения групп. При сравнении независимых групп применяли U-критерий Манна-Уитни. При оценке зависимых групп по количественным признакам применяли критерий Вилкоксона. Значимость различий качественных признаков в независимых группах оценивали по критерию хи-квадрата Пирсона. В зависимых группах по критерию Мак-Немара.

Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Характеристика групп экспериментальных животных

Все работы с экспериментальными животными проводились с соблюдением гуманного обращения с животными, а также в соответствии с правилами GLP. Для оценки эффективности применения макролидных антибактериальных препаратов на течение раневого процесса на фоне аллоксанового диабета все животные были разделены на три группы по 25 особей в каждой, размещение индивидуальное. **Первая группа** – интактный контроль, местной и общей терапии животные не получали. **Вторая группа** – опытная 1, животные которой получали внутримышечные инъекции кларитромицина по установленной схеме (150 мг/кг/сут. в течение 10 суток). **Третья группа** – опытная 2, крысы которой получали внутримышечные инъекции препарата цефтриаксон по схеме 50 мг/кг/сут. В течение 10 дней. Животные выводились из эксперимента по пять особей из каждой группы на 3, 7, 14, 21 и 28-е сутки для забора материала и контроля за раневым процессом.

Не секрет, что эксперименты на животных не в полной мере воспроизводят течение раневого процесса у человека. Это связано с анатомо-физиологическими особенностями у животных. Таким образом, крысиная кожа имеет отличия от человеческой: имеет подлежащий слой мышечной ткани, более подвижна, за счет чего более интенсивно происходит раневая контракция, приводящая к уменьшению размеров раны. Нельзя не отметить различий в обменных процессах и репарации: у крыс всё происходит значительно быстрее [35]. Таким образом, полностью перенести результаты, полученные в опытах на крысах на человека нельзя [115]. Наблюдая за раневым процессом в группах животных, большое значение придавали общему состоянию животных, их активности, подвижности в клетках, состоянию шерсти. Шерсть животных в норме имеет своеобразный блеск и обычно

прилежит к кожному покрову. При осмотре раневых дефектов оценивали такие показатели, как наличие и характер струпа, прочность его прилежания к подлежащим тканям, выраженность перифокального воспаления, гиперемию кожи и инфильтрацию тканей в области раны.

3.1.1 Результаты формирования аллоксанового сахарного диабета

При введении диабетогенных доз аллоксана уровень глюкозы крови повышался уже с первых суток. Однако на протяжении эксперимента уровень глюкозы крови был различен. Так, у 17,3% животных глюкоза крови не превышала 9,0 ммоль/л ($8,78 \pm 0,21$). У оставшейся части средние показатели были на уровне $28,15 \pm 3,39$ ммоль/л.

Распределение лабораторных животных по уровню глюкозы крови в группах было следующим (таб. 9): в контрольной группе 3 (12%) крысы были слабо чувствительны к аллоксану, глюкоза – $8,78 \pm 0,21$ ммоль/л, в группе опыт 1 выявлено 4(16%) животных со средним значением глюкозы - $8,89 \pm 0,27$ ммоль/л, в группе опыт 2 у шести особей средние показатели глюкозы крови составили $8,80 \pm 0,16$ ммоль/л. При статистическом анализе различий по данному показателю в группах получено не было ($p > 0,05$).

Таблица 9 - Показатели глюкозы крови крыс с разной чувствительностью к аллоксану

Показатель	Слабо чувствительные			Сильно чувствительные		
	Опыт 1	Опыт 2	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Контроль
Глюкоза, ммоль/л	$8,89 \pm 0,27$	$8,80 \pm 0,16$	$8,78 \pm 0,21$	$27,00 \pm 3,31$	$27,95 \pm 3,02$	$28,15 \pm 3,39$
Количество особей, шт. (%)	4(16%)	6(24%)	3(12%)	21(84%)	19(76%)	22(88%)

У 62 животных средние показатели глюкозы крови составили: в контрольной группе $28,15 \pm 3,39$ ммоль/л., в опытной 1 – $27,00 \pm 3,31$ ммоль/л., в

опытной 2 - $27,95 \pm 3,02$. Таким образом, распределение экспериментальных животных по чувствительности к диабетогенному препарату в группах не отличалось.

3.1.2 Анализ микробного пейзажа полнослойных кожных ран у крыс

При изучении качественного состава микрофлоры в ранах животных был выделен 91 штамм микроорганизмов. На первом месте располагалось семейство Enterococcaceae с представителем *Enterococcus faecalis* 40 (43,9%) штаммов. Второе место занимало семейство Enterobacteriaceae 32 (35,2%) штамма, которые включали следующие виды: *Enterobacter cloacae* 26 (28,6%), *Escherichia coli* 4 (4,4%), *Klebsiella oxytoca* 2 (2,2%). Третье место – семейство Staphylococcaceae 19 (20,9%), с представителями *Staphylococcus aureus* 11 (12,1%), *Staphylococcus haemolyticus* 8 (8,8%) (рис. 2).

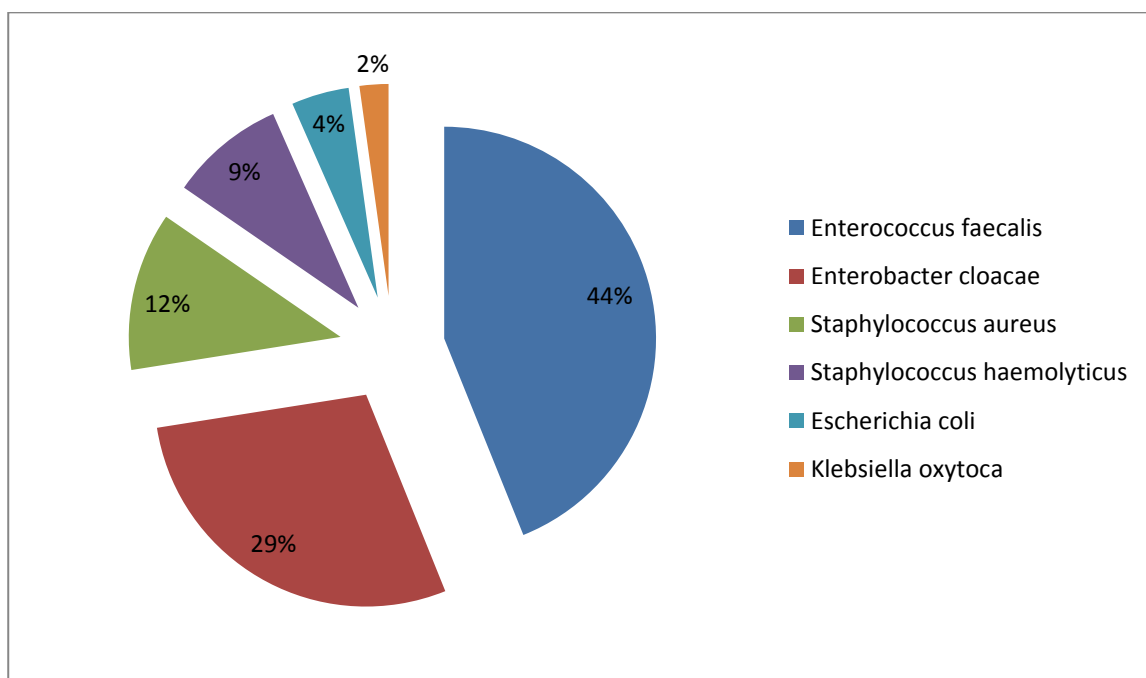


Рисунок 2 - Картина микробиологического пейзажа ран у крыс в эксперименте, %

Анализируя распределение выделенных штаммов микроорганизмов в группах экспериментальных животных отмечено преобладание *Enterococcus faecalis* в группе крыс, получавших цефалоспорины, что получило

статистически значимое подтверждение ($p=0,034$). Штаммы *Klebsiella* были выделены лишь у животных первой опытной группы, в ранах других животных данный микроорганизм не встречался. В остальном распределение микроорганизмов в группах животных не различалось ($p>0,05$) (рис. 3).

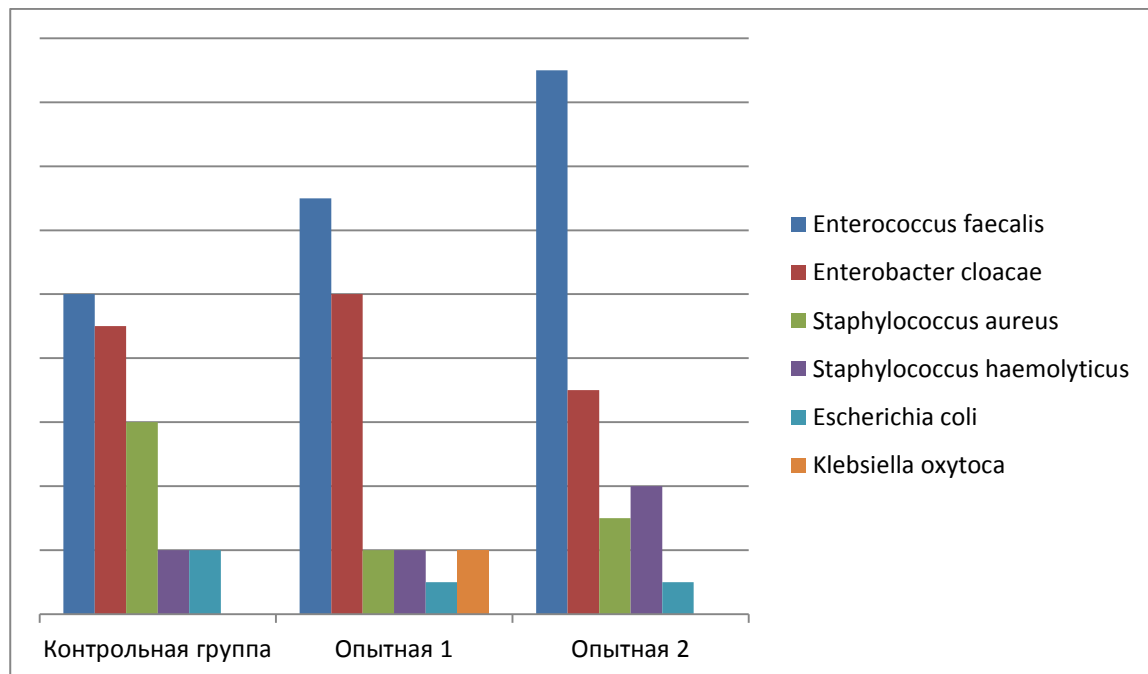


Рисунок 3 - Распределение выделенных штаммов в группах экспериментальных животных (количество штаммов)

Изучая чувствительность к антимикробным препаратам выделенных штаммов, обращает на себя внимание высокий уровень резистентности микроорганизмов к кларитромицину. Из таблицы 10 видно, что чувствительность к макролиду выявлена лишь у 7,2% штаммов семейства Enterococcaceae, что составило 3 микроорганизма; в группе энтеробактерий чувствительных штаммов выделено не было. В группе грамположительных бактерий чувствительность к кларитромицину была выше 50% за счет высокой активности в отношении золотистого стафилококка, резистентных штаммов которого выделено не было.

Цефтриаксон был высокоактивен в отношении, как грамотрицательной выделенной флоры, так и грамположительной, резистентных штаммов которой выделено не было (табл. 10).

Таблица 10 - Чувствительность представителей микрофлоры ран животных к антибактериальным препаратам в эксперименте (%)

Антибактериальный препарат	Enterococcaceae n=40	Enterobacteriaceae n=32	Staphylococcaceae n=19
Кларитромицин	7,2%	0%	57,9%
Цефтриаксон	64,6%	77,4%	100%

Подводя итоги результатов микробиологических посевов из ран экспериментальных животных можно сделать заключение, что распределение микроорганизмов в группах животных по видовому составу не различалось, а выделенные штаммы имели высокую резистентность к кларитромицину, в тоже время чувствительность к цефтриаксону была на уровне 80,3% в среднем.

При анализе мазков-отпечатков на микрофлору статистически значимых изменений в анализируемых группах на 3-е сутки эксперимента получено не было ($p=0,67$). Цитограмма ран животных, как контрольной, так и опытных групп характеризовалась наличием немногочисленных микробных тел в большинстве полей зрения.

На 7-е сутки эксперимента в мазках-отпечатках ран животных группы цефтриаксон определялись единичные микроорганизмы в различных местах препарата, в ряде препаратов микрофлора не обнаруживалась, что говорит о высокой активности антибактериального агента в отношении бактериальной флоры ран животных. В группе крыс, получавших кларитромицин, во всех препаратах выявляются разрозненные микроорганизмы в большинстве полей зрения. В мазках-отпечатках группы контроля на 7-е сутки - обильная микрофлора, равномерно покрывающая весь препарат. Данные наблюдения нашли свое статистическое подтверждение при уровне значимости 5%: $p_1=0,28$ (p -valueопыт 1/контроль), $p_2= 0,016$ (p -value опыт1/опыт2).

На 14-е сутки, что составило 96 часов после прекращения введения антибактериальных препаратов в опытных группах, микробиологическая картина в мазках-отпечатках была следующая: в группе цефтриаксона

определялись единичные микроорганизмы, как и в контрольной группе, у животных группы кларитромицин в большей части препаратов флоры не выявлено ($p_1=0,0011$ ($p\text{-value}_{\text{контроль/опыт 1}}$), $p_2=0,0016$ ($p\text{-value}_{\text{опыт1/опыт2}}$)). Такая тенденция сохранилась и в других более поздних сроках наблюдения.

3.1.3. Анализ заживления полнослойных кожных ран у крыс в эксперименте

На 2-е сутки после формирования модели плоскостной кожной раны поверхность раневого дефекта была покрыта тонким струпом, образованным раневым отделяемым. При взятии животного в руки корочка легко повреждалась, просачивался прозрачный экссудат. Отмечаются ярко выраженные признаки воспаления: края раны отечны, гиперемированы с участками некроза и расплавления некротических масс.

Экссудации в ранах не отмечено. Однако явления воспаления в ранах у животных, получавших антибактериальные препараты, значительно сглажены относительно контрольной группы. Раны полиморфны с наложением фибрина (рис. 4).

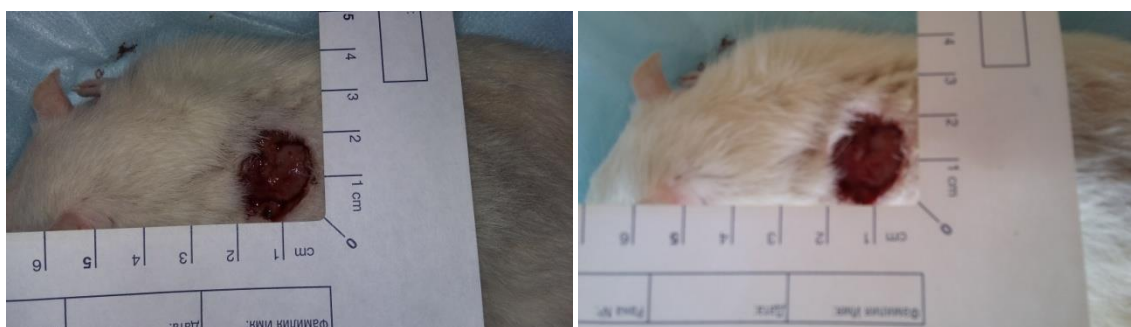


Рисунок 4 - Течение раневого процесса на 3-е сутки эксперимента

(**Обозначения:** Слева - животное контрольной группы, справа - животное группы опыт 1)

В группе контроля на 7-е сутки от начала эксперимента раневые дефекты у животных были покрыты плотным струпом темного цвета, сохранялись явления воспаления. Четыре крысы были малоподвижны, сидели в углу клетки,

не принимали пищу. При осмотре перифокально от раны определялось выбухание кожного покрова размерами 3*2см. с ярко выраженными признаками флюктуации. По краям раны – наложение фибрина с примесью белого гноя. При ревизии раны под наркозом во всех случаях были вскрыты полости гнойников, заполненные густым белым гноем без запаха в объеме около 5 мл. Струп с раны легко удалялся, под ним – ткани тусклого цвета с наложением фибрина, имелись участки некроза (рис. 5).

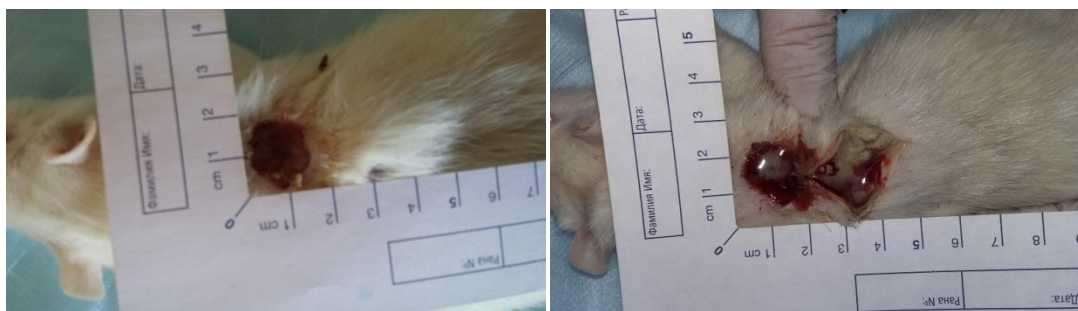


Рисунок 5 - Вид раны животного контрольной группы 7-е сутки эксперимента

В опытных группах на всем протяжении эксперимента осложнений течения раневого процесса в виде абсцедирования зарегистрировано не было. К 14-м суткам площадь ран у животных группы кларитромицин сократилась в 3,6 раза, такие же показатели были зарегистрированы и у животных группы цефтриаксон.

Корочка с раны удалялась с большим трудом, под ней располагался ярко гранулирующий раневой дефект с выраженными признаками краевой эпителизации.

В период с 21-х по 28-е сутки отмечено самостоятельное заживление 100% раневых дефектов в обеих опытных группах. В контрольной группе сохранялся раневой дефект около $31,2 \pm 9,8 \text{ мм.}^2$ по состоянию на 28-е сутки эксперимента. Раны у животных заживали под струпом, без признаков перифокального воспаления (рис. 6).

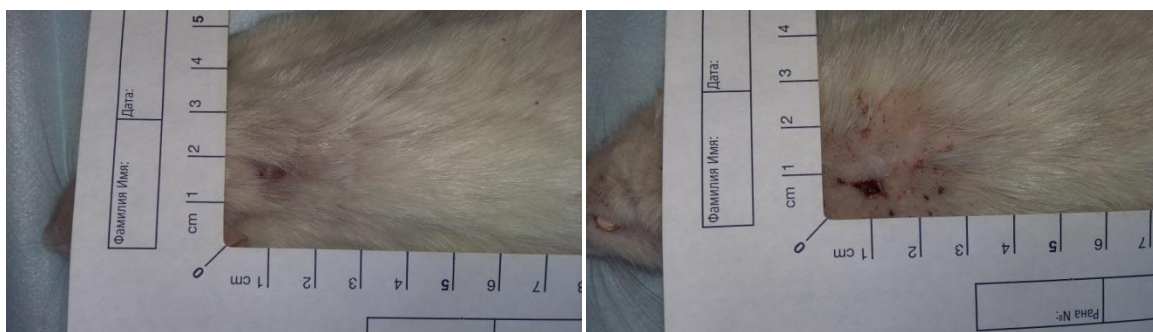


Рисунок 6 - Динамика раневого процесса. (*Обозначение:* Слева крыса группы опыт 1, 21-е сутки эксперимента. Справа - крыса группы контроль, 28-е сутки эксперимента)

При анализе результатов планиметрических исследований скорости эпителизации раневых дефектов, на 3-е сутки эксперимента, различия в группах получено не было. С 7-х суток эксперимента в обеих опытных группах отмечено достоверное уменьшение площади ран в сравнении с контрольной за счет раневой контракции и краевой эпителизации. Опытные группы между собой не различались. Размеры раневой поверхности составили $248,0 \pm 7,9 \text{ мм}^2$ – терапией кларитромицином (опыт 1), $251,2 \pm 8,3 \text{ мм}^2$ – терапией цефтриаксоном (опыт 2) против $366,8 \pm 17,8 \text{ мм}^2$ у контрольной группы животных. Такая же тенденция была прослежена во все последующие сроки наблюдения (табл. 11).

Таблица 11 - Динамика изменения площади раневого дефекта ($M \pm m$; мм^2)

Группа	Площадь ран (мм^2)					
	Исходная	3-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки
Опыт 1	400	$361,4 \pm 9,4$	$248,0 \pm 7,9^*$	$110,0 \pm 24,9^*$	$42,4 \pm 9,2^*$	0^*
Опыт 2	400	$359,3 \pm 8,3$	$251,2 \pm 8,3$	$97,2 \pm 16,8$	$41,6 \pm 9,3$	0
Контрольная	400	$389,0 \pm 10,2$	$366,8 \pm 17,8$	$268,4 \pm 41,5$	$124,0 \pm 15,2$	$31,2 \pm 9,8$

Примечание:

* - p_1 -value группа опыт 1/ контроль ($p < 0,05$)

** - p_2 -value группа опыт 1/ опыт 2 ($p < 0,05$)

Скорость заживления раневых дефектов вычисляли по формуле: $Y = 100 * (S_0 - S_t) / S_0$ (Фенчин К.М. и Навакатинян О.А., 1979), где S_0 – величина площади раны при предшествующем измерении; S_t – площадь раны на день t.

Таблица 12 - Скорость заживления раневых дефектов ($M \pm m$, %)

Группа	Процент заживления ран				
	3-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки
Опыт 1	9,65±0,69*	31,4±3,12*	55,6±7,32*	61,4±6,14	-
Опыт 2	10,1±0,31	30,1±2,24	61,3±10,22	57,2±8,35	-
Контрольная	2,75±0,77	5,7±1,54	26,8±11,38	53,8±4,59	74,8±7,34

Примечание:

* - p_1 -value группа опыт 1/ контроль ($p < 0,05$)

** - p_2 -value группа опыт 1/ опыт 2 ($p < 0,05$)

Из таблицы 12 следует, что достоверное уменьшение площади ран при использовании антибактериальных препаратов обеих групп происходит уже на 3-е сутки. Уже на 7-е сутки эксперимента скорость заживление раневых дефектов в опытных группах превосходит в пять с половиной раза данные показатели в контрольной группе, что прослеживается вплоть до 21-х суток эксперимента. При этом, различий в группах животных, получавших антибактериальные препараты, получено не было. Показатели сокращения площади раневых дефектов у животных опытной группы зарегистрированы только в поздние сроки наблюдения, начиная с 21-х суток. В то время процент сокращения площади ран у животных опытных групп оставался на высоком уровне.

Таким образом, в условиях высокой резистентности выделенной флоры из ран животных к антибактериальному препарату кларитромицин показатели планиметрического контроля за течением раневого процесса у животных данной группы находятся на стабильно высоком уровне и не отличаются от данных полученных от крыс, получавших антибиотик, с учетом чувствительности выделенных штаммов микроорганизмов.

3.1.4. Результаты цитологического контроля течения раневого процесса

Клеточный состав мазков-отпечатков был представлен большим количеством клеток: нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами, гистиоцитами, фиброцитами, фибробластами, эпителиальными и эндотелиальными клетками, многие из них характеризовались небольшим

процентным содержанием и большим числовым разбросом, что делало анализ раневых отпечатков очень сложным и громоздким. Поэтому, придерживаясь поставленной задачи, исследовали такие элементы, как нейтрофильные лейкоциты, их фагоцитирующие и дегенеративные формы, оценивали характер и интенсивность фагоцитоза. Обнаруживаемые при этом изменения, в зависимости от стадии раневого процесса, были классифицированы как один из 6 типов цитогрaмм по Штейнбергу.

В цитогрaммах всех групп животных на 3-е сутки преобладающим видом клеток являлись нейтрофильные лейкоциты, в основном, за счет сегментоядерных и небольшим процентом палочкоядерных форм.

Нейтрофильные сегментоядерные лейкоциты были представлены клетками округлой формы в диаметре 10 – 12 мкм, ядро содержало 3 – 5 сегментов, соединены тонкими перемычками. Палочкоядерные лейкоциты имели несегментированное ядро в форме буквы S. Фагоцитирующие нейтрофилы были представлены сегментоядерными формами, цитоплазма которых содержала мелкие вакуоли, фрагменты ядер и бактериальную флору.

Кроме того, постоянно встречавшиеся в составе раневых отпечатков дегенерирующие лейкоциты были представлены клеточными формами с признаками деструкции. Статистически значимых различий в группах по клеточному составу мазков-отпечатков на 3-е сутки эксперимента не было.

На 7-е сутки наблюдения отмечено снижение содержания нейтрофильных лейкоцитов в мазках-отпечатках как в группе с макролидным антибиотиком, так и в группе крыс, получавших цефтриаксон, что свидетельствует об ослаблении воспалительной реакции и переходе раневого процесса в фазу регенерации ($p_1=0,021$ (p-value контроль/опыт 1), $p_2=0,293$ (p-value опыт1/опыт2)).

У животных группы опыт 1 выявлено увеличение фагоцитирующих нейтрофильных лейкоцитов, так же имеющее место на 7-е сутки раневого процесса, что могло отражать иммунопролиферативные процессы у крыс,

получавших инъекции макролида ($p_1=0,001$ (p-value контроль/опыт 1), $p_2=0,034$ (p-value опыт1/опыт2)) (рис. 7).

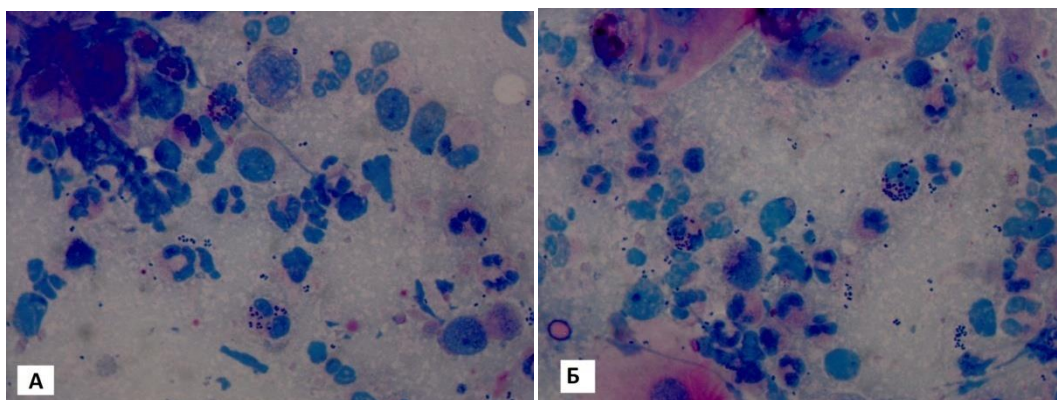


Рисунок 7 - Цитологическая картина ран животных на 7-е сутки эксперимента (Романовскому-Гимзе, x1000)

(**Обозначения:** А - Мазок-отпечаток раны животного контрольной группы; Б - Мазок-отпечаток раны животного группы опыт 1)

Анализируя динамику дегенерирующих нейтрофильных лейкоцитов, можно отметить снижение их количества, начиная с 7-х суток, у крыс, получавших антибактериальные препараты, тогда как в контрольной группе количество деструктивных форм нарастало с течением времени. В более поздние сроки эксперимента достоверных различий по клеточному составу мазков-отпечатков ран животных в группах получено не было (табл. 13).

Цитологическая характеристика раневого процесса включает в себя также оценку характера фагоцитоза.

Таблица 13 - Динамика нейтрофильных лейкоцитов в мазках-отпечатках ран в эксперименте ($M \pm m$)

Показатель	Нейтрофильные лейкоциты			Фагоцитирующие нейтрофильные лейкоциты			Дегенерирующие нейтрофильные лейкоциты		
	Опыт 1	Опыт 2	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Контроль	Опыт 1	Опыт 2	Контроль
3-е	43,0 ±4,18	43,9 ±3,67	41,8 ±3,11	6,8 ±0,83	7,7 ±0,37	7,2 ±0,44	17,6 ±1,38	12,7 ±1,22	15,6 ±1,51
7-е	26,4 ±1,14 *	25,8 ±2,02	32,2 ±2,86	14,0 ±1,58*	9,8 ±0,83*	6,8 ±0,83	11,8 ±1,64*	10,2 ±1,92	19,8 ±1,92
14-е	20,4 ±0,89	22,0 ±1,87	33,6 ±1,51	12,0 ±1,22	9,1 ±1,21	7,3 ±1,41	8,4 ±0,54*	7,4 ±0,63	14,2 ±0,83
21-е	22,8 ±1,89	23,4 ±1,19	29,0 ±1,58	7,2 ±0,83	7,9 ±0,33	6,2 ±0,54	7,6 ±0,54	7,2 ±0,29	8,0 ±0,71
28-е	-	-	25,0 ±2,34	-	-	6,8 ±0,83	-	-	10,0 ±1,41

Примечание: * - p_1 -value группа опыт 1/ контроль ($p < 0,05$).

** - p_2 -value группа опыт 1/ опыт 2 ($p < 0,05$)

Таблица 14 - Характер фагоцитоза (%)

Группа	Характер фагоцитоза	Процентное соотношение видов фагоцитоза				
		3-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки
Опыт 1	Завершенный	2,1	23,1*	95,6*	64,3	-
	Незавершенный	10,4	15,4	4,4	35,7	-
	Извращенный	87,5	61,5	0*	0	-
Опыт 2	Завершенный	2,9	7,4**	65,8**	58,2	-
	Незавершенный	12,3	77,6	27,9	41,8	-
	Извращенный	84,8	70,2	6,3**	0	-
Контрольная	Завершенный	3,1	5,7	57,1	65,4	66,7
	Незавершенный	11,6	21,8	31,0	34,6	33,3
	Извращенный	85,3	72,5	11,9	0	0

Примечание: * - p_1 -value группа опыт 1/ контроль ($p < 0,05$)

** - p_2 -value группа опыт 1/ опыт 2 ($p < 0,05$)

Как видно из таблицы 14, на 3-е сутки эксперимента группы животных по характеру фагоцитоза не отличались. На 7-е сутки отмечен рост завершеного фагоцитоза в группе животных получавших кларитромицин, что составило 23,1% против 5,7% в группе контроля ($p=0,014$) и 7,4% в группе животных, получавших цефтриаксон ($p=0,026$). Сходные результаты были получены и на 14-е сутки эксперимента, где в группе животных, получавших макролид, отмечено значительное преобладание завершеного фагоцитоза и полное отсутствие в мазках-отпечатках его извращенных видов, по сравнению с другими группами животных. К 21-м суткам группы статистически не различались (табл. 14).

Как завершающий этап контроля за раневым процессом, в мазках-отпечатках выделяли один из 6 типов цитологической картины по Штейнбергу.

Таблица 15 - Тип цитограмм в мазках-отпечатках ран экспериментальных животных

Сутки	Группа	Тип цитограммы						P* value	P** value
		I	II	III	IV	V	VI		
3-е	Опыт 1	3	2					0,89	0,32
	Опыт 2	2	3						
	Контрольная	2	3						
7-е	Опыт 1		1	2	2			0,016	0,91
	Опыт 2		1	1	3				
	Контрольная	4	1						
14-е	Опыт 1				2	2	1	0,034	1,0
	Опыт 2				2	2	1		
	Контрольная		1	3	1				
21-е	Опыт 1						5	0,001	1,0
	Опыт 2						5		
	Контрольная				2	3			
28-е	Опыт 1	-	-	-	-	-	-	-	-
	Опыт 2	-	-	-	-	-	-		
	Контрольная						5		

Примечание: p* - группа опыт 1/ контроль; p** - группа опыт 1/ опыт 2

На 3-е сутки мазки-отпечатки ран животных характеризовались некротическим и дегенеративно-воспалительным типами цитограмм.

Различий в группах животных не было. На 7-е сутки, в группах крыс получавших антибактериальные препараты отмечен переход к воспалительно-регенераторному типу цитогрaмм, тогда как в мазках-отпечатках ран животных контрольной группы сохраняется некротический тип, что имеет статистическое подтверждение. На 14-е сутки, во всех мазках-отпечатках ран крыс опытных групп отмечен переход во вторую фазу раневого процесса, в контрольной группе тип цитогрaмм характеризуется, как воспалительный (табл. 15).

3.1.5 Иммунологическая эффективность применения макролидов

Первыми клетками, которые сталкиваются на пути с микроорганизмами, являются фагоциты и от их активности зависит эффективность элиминации возбудителя. Вирулентность микроорганизма является вторым по значимости фактором определяющим результат взаимодействия «микроб-хозяин». Способность к уничтожению живых объектов является заключительным моментом, в котором сфокусированы все звенья противомикробного потенциала нейтрофильных гранулоцитов, такие, как рецепция, адгезия, хемотаксис, поглощение и образование фаголизосом, секреторная дегрануляция, метаболический взрыв.

Известно, что у пациентов с сахарным диабетом нарушены функции полиморфноядерных лейкоцитов, а именно посвященные хемотаксису, фагоцитозу и внутриклеточному киллингу[145,155,167]. Авторы этих исследований считают, что нарушения фагоцитарной и микробицидной функций ПЯЛ могут быть обусловлены как наследственными дефектами ПЯЛ, так и патологическими уровнями глюкозы и инсулина. Принимая во внимания факт, что нейтрофильные гранулоциты вносят существенный вклад в механизмы иммунобиологической реакции по ограничению и подавлению микробной инфекции, необходимо учитывать их функциональную активность при разработке и формировании антибактериальной программы.

При этом представляет большой интерес оценка фагоцитарной функции и кислород-зависимой биоцидности нейтрофильных гранулоцитов в зависимости от подхода к антибактериальной терапии.

Анализируя общеклинические параметры крови экспериментальных животных, отмечено достоверное увеличение числа лейкоцитов у крыс контрольной группы во все сроки наблюдения. При этом относительное содержание НГ находилось в пределах показателей опытных групп ($p < 0,05$). Изучая показатели абсолютного содержания нейтрофилов в группах животных, отмечено их увеличение в группе крыс, получавших цефалоспорины с 7-х суток эксперимента. Достоверные статистические различия (в сравнении с крысами получавшими макролиды) получены на 10-е сутки наблюдения ($p = 0,0012$) (табл.16).

Таблица 16 - Показатели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови ($M \pm m$)

Сутки	Группа	Нейтрофильные гранулоциты			Функциональная активность НГ	
		Лейкоциты	%НГ	НГабс	%ФАН	ФАНабс
3-е	Опыт 1	10,50 $\pm 0,89^*$	23,6 $1 \pm 1,61$	3,76 $\pm 0,39$	59,44 $\pm 1,53$	1,73 $\pm 0,09$
	Опыт 2	9,28 $\pm 0,59$	24,41 $\pm 0,87$	3,77 $\pm 0,40$	50,21 $\pm 2,39$	1,88 $\pm 0,07$
	Контрольная	15,64 $\pm 1,12$	23,51 $\pm 1,44$	3,34 $\pm 0,30$	55,28 $\pm 1,27$	1,94 $\pm 0,11$
7-е	Опыт 1	14,32 $\pm 1,36^*$	20,52 $\pm 0,82$	2,12 $\pm 0,22$	51,87 $\pm 2,32$	1,84 $\pm 0,06$
	Опыт 2	12,44 $\pm 1,02$	22,3 $\pm 1,32$	4,01 $\pm 0,31$	49,31 $\pm 1,78$	1,53 $\pm 0,14$
	Контрольная	21,95 $\pm 1,86$	23,87 $\pm 1,31$	3,91 $\pm 0,44$	53,62 $\pm 2,07$	1,49 $\pm 0,09$
10-е	Опыт 1	10,33 $\pm 0,44^*$	31,64 $\pm 0,54$	3,14 $\pm 0,11$	51,21 $\pm 1,05$	2,58 $\pm 0,20$
	Опыт 2	11,21 $\pm 1,20$	31,10 $\pm 0,44$	5,75 $\pm 0,35^{**}$	48,69 $\pm 2,31$	2,06 $\pm 0,20$
	Контрольная	19,42 $\pm 1,12$	32,43 $\pm 0,74$	3,12 $\pm 0,22$	48,12 $\pm 2,59$	1,44 $\pm 0,12$

Примечание: p^* - группа опыт 1/ контроль ($p < 0,05$).

p^{**} - группа опыт 1/ опыт 2 ($p < 0,05$)

При анализе функциональной активности НГ у животных экспериментальных групп отмечено, что у крыс контрольной группы (без лечения) и опыт 2 (терапия цефтриаксоном) имеется тенденция к снижению числа активно-фагоцитирующих клеток (%ФАН) на 4-е сутки наблюдения, относительно животных получавших антибактериальный препарат кларитромицин. Снижение %ФАН наблюдается также на 7-е и 10-е сутки эксперимента, приобретая характер достоверной количественной депрессии к концу наблюдения. Однако, ФАНабс (абсолютное содержание активно фагоцитирующих клеток) не подвержено изменениям в ранние сроки наблюдения, за счет увеличения общего числа лейкоцитов и числа НГ в микролитре крови. На 10-е сутки эксперимента показатели ФАНабс в группе животных, получавших кларитромицин были в 1,8 раза выше контрольной группы ($p=0,022$) и в 1,2 раза выше таковых группы крыс, получавших цефалоспорин ($p=0,034$) (табл. 16).

Таблица 17 - Показатели поглотительной способности и завершенности фагоцитарного акта НГ периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)

Сутки	Группа	Поглотительная способность НГ		Завершенность фагоцитарного акта	
		ФЧ	ФИ	%П	ИП
3-е	Опыт 1	2,79±0,08	0,93±0,08	60,27±1,84	0,45±0,05
	Опыт 2	2,39±0,10	1,08±0,06	59,35±1,25	0,88±0,06
	Контрольная	2,34±0,18	1,03±0,11	63,81±1,61	0,74±0,05
7-е	Опыт 1	2,41±0,33*	1,43±0,07	41,65±1,93	0,85±0,05
	Опыт 2	2,31±0,16	1,21±0,07	47,58±1,47	0,91±0,12
	Контрольная	2,25±0,12	1,35±0,09	46,54±1,48	0,96±0,20
10-е	Опыт 1	3,79±0,08*	1,48±0,05*	48,21±2,31*	1,04±0,03*
	Опыт 2	2,29±0,09**	1,12±0,08**	47,19±2,39	0,68±0,05**
	Контрольная	2,17±0,18	1,16±0,07	34,50±1,77	0,53±0,05

Примечание: p^* - группа опыт 1/ контроль ($p<0,05$)

p^{**} - группа опыт 1/ опыт 2 ($p<0,05$)

Из таблицы 17 видно, что в группе крыс, получавших макролидный антибактериальный препарат, привело не только к увеличению числа активно

фагоцитирующих клеток, но и к увеличению их поглотительной способности, о чем свидетельствовал рост фагоцитарного индекса (ФИ), особенно на 10-е сутки эксперимента (группа опыт 1/ контроль $p=0,039$; группа опыт 1/ опыт 2 $p=0,026$). Переваривающая способность фагоцитов в группах животных в ранние сроки наблюдения не была подвержена достоверным изменениям, однако на 10-е сутки имела место выраженная тенденция к увеличению индекса (ИП) и процента (%П) переваривания бактериального агента в 1-й группе относительно таковых контрольной группы и опытной 2 (табл.17).

Таблица 18 - Показатели микробицидной функции НГ периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)

Сутки	Группа	%ФПКсп	%ФПКст	КМ
3-е	Опыт 1	2,80±0,22	2,24±0,08	0,89±0,09
	Опыт 2	2,94±0,31	2,31±0,08	0,79±0,07
	Контрольная	2,41±0,21	2,05±0,09	0,85±0,07
7-е	Опыт 1	1,11±0,18	2,58±0,27	2,22±0,18
	Опыт 2	0,99±0,06	2,01±0,03	2,03±0,20
	Контрольная	0,99±0,05	1,97±0,02	1,98±0,12
10-е	Опыт 1	1,04±0,06	2,75±0,25*	2,54±0,12*
	Опыт 2	1,01±0,04	1,90±0,12**	1,88±0,14**
	Контрольная	0,99±0,05	1,97±0,02	1,98±0,12

Примечание: р* - группа опыт 1/ контроль ($p < 0,05$)

р** - группа опыт 1/ опыт 2 ($p < 0,05$)

Оценка результатов оксидазной биоцидности НГ периферической крови в спонтанном NBT-тесте не выявила отличий в группах животных во все сроки наблюдения ($p > 0,05$). При дополнительной антигенной нагрузке со *Staphylococcus aureus* (штамм 209) *in vitro* отчетливо прослеживается депрессия показателей оксидазной биоцидной системы у животных контрольной группы и группы опыт 2 по отношению к крысам, получавшим кларитромицин. Наиболее значимые результаты были получены на 10-е сутки эксперимента, что составило: %ФПКст=1,60±0,08 в группе контроля против 2,75±0,25 в опытной группе ($p=0,0011$) и 1,90±0,12 в группе опыт 2 против 2,75±0,25 ($p=0,0026$). Данное снижение %ФПКст обуславливает и снижение величины коэффициента

мобилизации (КМ), что составило $1,61 \pm 0,19$ в контроле, $1,88 \pm 0,14$ – в группе крыс получавших цефтриаксон и $2,54 \pm 0,12$ у животных, получавших кларитромицин (табл. 18).

Анализируя полученные результаты исследования фагоцитарной функции и кислородзависимой биоцидности нейтрофильных гранулоцитов, следует заключить, что у животных контрольной группы и крыс, получавших цефалоспорин имело место подавление фагоцитарной активности НГ, о чем свидетельствовало снижение поглотительной способности и снижение индекса и процента переваривания бактериального агента, максимально выраженные на 10-е сутки наблюдения, вследствие иммунодепрессивного воздействия диабетогенных доз аллоксана и формирования модели инфицированной полнослойной кожной раны спины. Однако, учитывая показатели фагоцитарной активности крови крыс опытной группы, животные которой получали инъекции кларитромицина, статистически достоверно прослеживалась тенденция к росту данных показателей, что снижало риски вторичного инфицирования ран и создавало условия для репаративного процесса.

Нельзя не отметить рост абсолютного содержания НГ в крови у крыс группы опыт 2, в поздние сроки наблюдения, что по нашему мнению было связано с активацией компенсаторных механизмов, как следствие недостаточности фагоцитарной активности НГ.

При изучении оксидазной биоцидности НГ периферической крови крыс наибольший интерес представляли данные в условиях дополнительной антигенной нагрузки (стимулированный NBT-тест), что позволяло выявить скрытые нарушения оксидазной биоцидности клеток. При этом, было статистически доказано, что в поздние сроки ответ на антигенную нагрузку (*Staphylococcus aureus* (штамм 209)), оцениваемый по коэффициенту мобилизации, был более высоким в группе животных, получавших инъекции антибактериального препарата группы макролидов, что говорило о более

адекватном реагировании нейтрофильных гранулоцитов крови крыс на бактериальный агент.

Описанные механизмы иммунологических изменений в периферической крови экспериментальных животных, по нашему мнению, были связаны с влиянием макролидов на функции нейтрофил. Благодаря своей способности проникать внутрь нейтрофилов и создавать в них высокие концентрации антибактериальный препарат данной группы модифицировал функции данных клеток и тем самым оказывал влияние на активность фагоцитоза.

Описанный нами механизм требует уточнения и проведения дополнительных исследований.

3.2. Результаты клинической работы

Характеристика групп больных до лечения

3.2.1. Характеристика обследованных больных

Комплексное обследование выполнено 65 пациентам с сахарным диабетом и синдромом диабетической стопы, находившимся на стационарном лечении в ГБУ РО ГК «Больница скорой медицинской помощи», отделение гнойной хирургии в период с сентября 2015 года по декабрь 2017 года.

3.2.2. Клиническая характеристика

Пациенты двух групп были сопоставимы по возрасту, характеру сопутствующей патологии, выраженности дистальной полинейропатии, состоянию артериального кровотока, а также по характеру гнойно-некротических поражений нижних конечностей ($p > 0,05$).

В таблице 19 представлена клиническая характеристика больных на момент поступления в стационар, распределенных в две группы: основная группа №30 – комбинированная антибактериальная терапия, и группа сравнения №35 – стандартная антибактериальная терапия.

Таблица 19 - Характеристика обследованных больных

Показатель	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Пол (М/Ж)	20/12	20/15	0,82
Возраст, Ме [Q25;Q75], лет	62[55;69]	63[55;70]	0,45
Тип сахарного диабета (1/2)	4/26	5/30	0,91
Длительность течения СД, Ме [Q25;Q75], лет	13[9;17]	12[9;16]	0,76
НbA1c, Ме [Q25;Q75], %	10,1[8,9;11,5]	8,9[7,9;10,2]	0,011
Форма СДС(нейропатическая/нейр оишемическая/ишемическа)	6/24/0	8/27/0	0,78

Как видно из приведенной таблицы, пациенты, распределенные в ту или иную группу, были сопоставимы по полу и возрасту. Преобладали лица мужского пола. Средний возраст больных в группах составил 63 ± 8 лет.

Преобладающее большинство пациентов страдало сахарным диабетом 2 типа. Средняя длительность заболевания составляла $13 \pm 4,5$ лет. Большинство больных имела нейроишемическую форму СДС. Пациентов с ишемической формой диабетической стопы не было. Среднее значение гликированного гемоглобина(НbA1c) составляло $9,47 \pm 1,94\%$, что говорит о неудовлетворительном контроле сахарного диабета и требует коррекции гипогликемической терапии.

Однако, показатели углеводного обмена в группах оказались не однозначными, таким образом уровень гликированного гемоглобина в основной группе был статистически более высоким, чем у пациентов контрольной группы ($p=0,011$). Все больные с момента поступления в стационар переводились на инсулинотерапию с коррекцией дозы в ходе лечения.

3.2.3 Результаты лабораторных показателей крови обследованных больных

В таблице 20 представлены результаты лабораторных исследований крови пациентов на момент госпитализации в стационар.

Таблица 20 - Лабораторные показатели крови у пациентов обследованных групп

Показатель	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Гемоглобин, Ме [Q25;Q75], г/л	148[100; 130]	120[110; 132]	0,37
СОЭ, Ме [Q25;Q75], мм/час	67[53;84]	56 [47; 67]	0,002
Белок общ., Ме [Q25;Q75], г/л	71[68; 74]	72[70; 77]	0,09
Альбумин, Ме [Q25;Q75], %	37[31; 41]	39[34; 41]	0,29
Креатинин, Ме [Q25;Q75], мкмоль/л	88,7[61,0; 112,0]	85,4[64,0; 100,0]	0,62
Ост.азот, Ме [Q25;Q75], ммоль/л	21,9[17,8; 23,3]	23,5[19,9; 26,8]	0,25
Холестерин общ., Ме [Q25;Q75], ммоль/л	4,38[3,94; 4,97]	3,85[3,49; 4,21]	0,22
ЛПВП, Ме [Q25;Q75], ммоль/л	0,80[0,64; 0,99]	0,83[0,69; 0,95]	0,46
ЛПНП, Ме [Q25;Q75], ммоль/л	2,47[1,93; 2,92]	1,83[1,61; 2,63]	0,40

При анализе полученных результатов обращает внимание наличие анемии легкой степени тяжести у пациентов обеих групп. Таким образом, анемия I степени выявлена у 4 пациентов группы сравнения и у 6 пациентов

основной группы. Отмечено наличие гипопроотеинемии и гипоальбуминемии у ряда больных в обеих группах (табл. 20).

Несомненно, данные факторы играют роль в качестве причин замедленного заживления ран и оказывают свое влияние на все фазы раневого процесса, но учитывая равномерность распределения патологии по группам ($p > 0,05$), эти данные не учитывались при дальнейшем проведении анализа.

3.2.4 Сопутствующие заболевания у пациентов, включенных в исследование

При поступлении в стационар у всех пациентов определялось наличие сопутствующей патологии: ишемическая болезнь сердца (ИБС), постинфарктный кардиосклероз (ПИКС), гипертоническая болезнь (ГБ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), язвенная болезнь желудка (ЯБЖ), мочекаменная болезнь (МКБ) в анамнезе, хроническая венозная недостаточность (ХВН), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ).

На рисунке 8 представлена структура сопутствующих заболеваний у обследуемых групп.

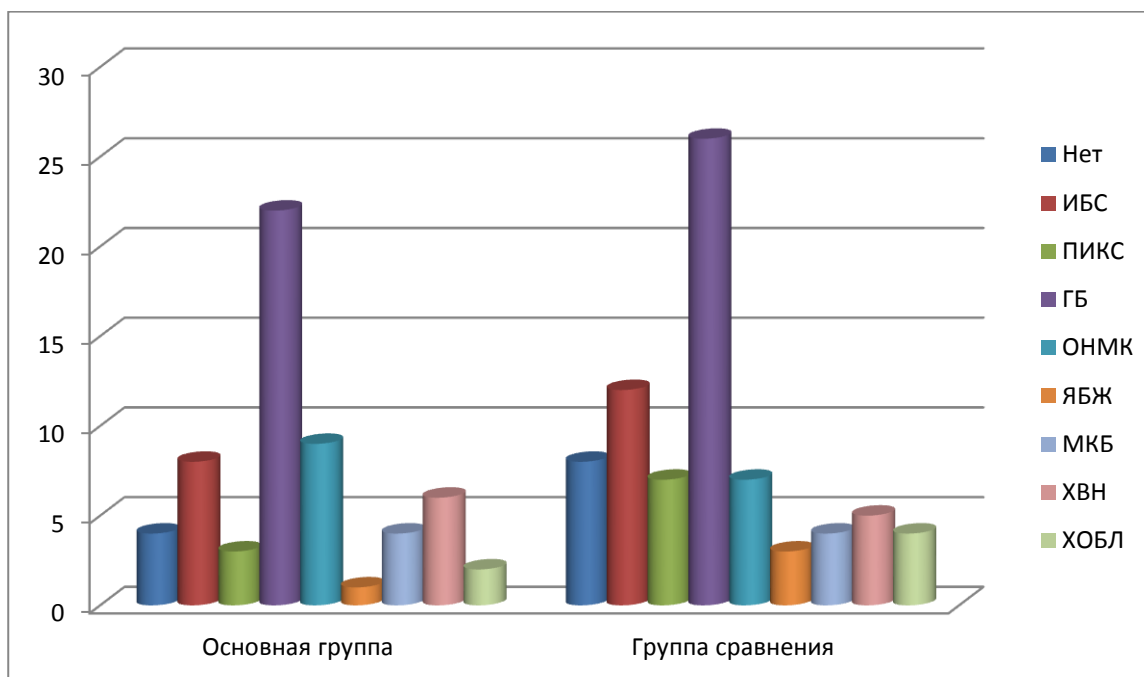


Рисунок 8 - Структура сопутствующей патологии у обследованных больных

Как видно из рисунка 8, основная группа и группа сравнения были достоверно сопоставимы по наличию и характеру сопутствующей патологии ($p > 0,05$). У большинства обследованных пациентов имелась гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца. В группе сравнения у меньшего количества больных сопутствующая патология отсутствовала ($p < 0,05$).

Дополнительный анализ влияния коморбидной патологии на течение раневого процесса в группах не являлся целью нашей работы.

3.2.5 Оценка выраженности полинейропатии у обследованных больных

Для оценки периферической диабетической полинейропатии применяли модифицированную шкалу нейропатического дисфункционального счета (НДСм), разработанную центром диабетической стопы [22].

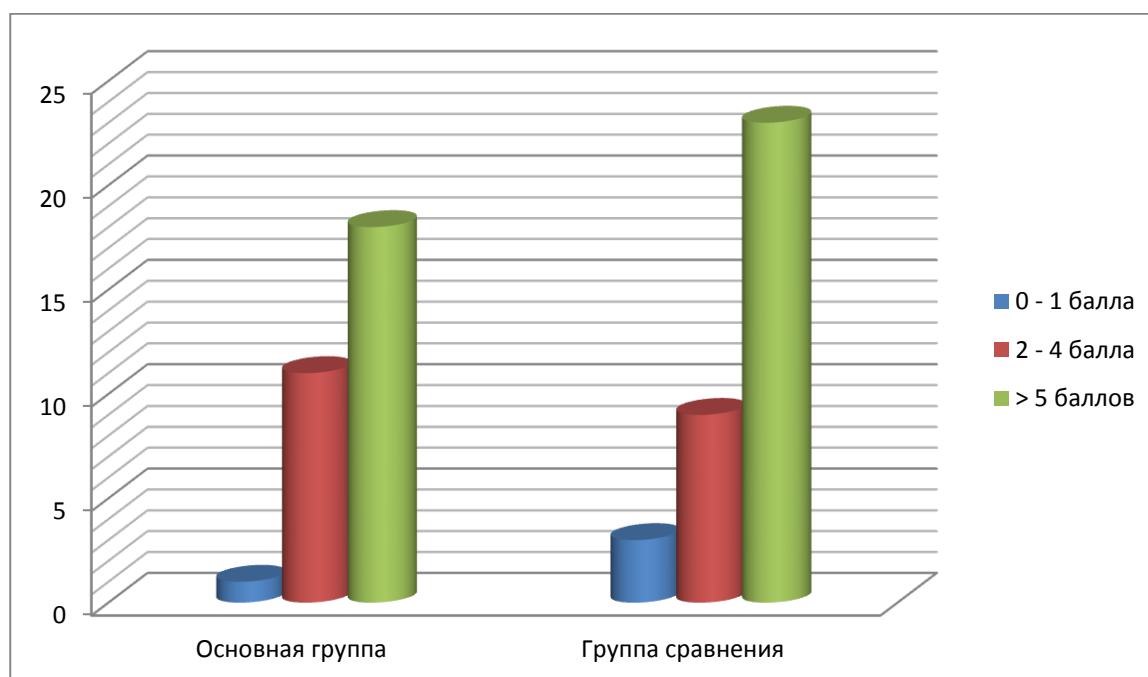


Рисунок 9 - Выраженность диабетической полинейропатии у обследованных больных

Согласно методике определяли тактильную, болевую, температурную и вибрационную чувствительность. В дальнейшем для каждого вида нарушения чувствительности высчитывается средняя величина баллов по двум ногам (правая нога + левая нога) / 2. Сумма средних значений четырех видов чувствительности составляет модифицированную шкалу НДС.

НДСм от 0 до 1 балла свидетельствует об отсутствии либо наличии у пациента начальных признаков периферической сенсомоторной нейропатии; НДСм от 2 до 4 баллов соответствует умеренно выраженной нейропатии, НДСм > 5 баллам соответствует выраженной периферической нейропатии.

Анализируя полученные данные (рис. 9), группы статистически не различались по выраженности дистальной полинейропатии. Практически у всех больных имелась дистальная диабетическая полинейропатия. Согласно полученным данным у 23 пациентов группы сравнения и 18 больных основной группы показатели соответствовали значениям выраженной полинейропатии ($p > 0,05$). У 4 пациентов отсутствовали ярко выраженные проявления нейропатии по результатам оценки периферической чувствительности, тем не менее, гиперкератоз стоп, наличие сухости кожи стоп, нарушение работы потовых желез, позволило расценить данные симптомы как начальные проявления нарушения периферической нейропатии.

3.2.6. Состояние магистрального кровотока у обследованных пациентов

Учитывая тот факт, что сахарный диабет является одним из основных факторов риска развития заболеваний периферических артерий, характеризующимся развитием медиакальциноза, что усугубляет эффективность ряда диагностических тестов для диагностики критической ишемии.

Так, из-за медиакальциноза чувствительность измерения систолического давления в артериях голени и пальцевой артерии составляет не более 50%. В случае отека на стопе или развитого инфекционного воспаления могут искажаться показатели транскутантного напряжения кислорода [14].

Все вышеперечисленное говорит о необходимости комплексного обследования для диагностики критической ишемии.

В своем исследовании для оценки периферического кровотока применяли ультразвуковое дуплексное сканирование, а также проводили визуальную оценку состояния стопы и раневого дефекта.

При обследовании артерий нижних конечностей данный метод позволял определять состояние стенок сосудов, состоянии просвета сосудов, наличия их сужения с указанием %, характер кровотока в исследуемых сосудах с измерением регионального систолического давления.

Оценка сосудистого статуса завершалась анализом степени выраженности хронической артериальной недостаточности.

Гемодинамически незначимыми, а, соответственно, не требующими хирургической коррекции, считали стенозы артерий менее 50%, при наличии магистрального или магистральноизмененного кровотока по данным дуплексного сканирования.

Из таблицы 21 видно, что в большинстве случаев у обследованных пациентов имелось поражение дистального сосудистого русла. В группе сравнения у 13 (37,1%) пациентов отмечено окклюзия артерий на уровне берцово-стопного сегмента.

Окклюзия артерий на уровне берцово-стопного сегмента отмечено у 13 (37,1%) и 11 (36,6%) пациентов основной группы. Окклюзия всех берцовых артерий в группах обследованных пациентов не было.

Стеноз одной из тибиальных артерий диагностирован у 3 (8,6%) больных группы контроля и у 4 (13,3%) - основной группы.

Стеноз обеих тибиальных артерий выявлен у 5 (14,2%) человек в группе контроля и у 4 (13,3%) в основной группе, стеноз одной и окклюзия другой – у 10 (28,6%) пациентов в контрольной группе и у 9 (30,0%) - в основной.

Таблица 21 - Частота и варианты поражения артерий нижних конечностей у обследованных больных

Уровень исследования	Основная группа (n=30)		Группа сравнения (n=35)	
	Стеноз артерий	Окклюзия артерий	Стеноз артерий	Окклюзия артерий
Подвздошно-бедренный сегмент	-	-	2 (5,7%)	-
Бедренно-подколенный сегмент	3 (10%)	-	2 (5,7%)	-
Берцово-стопный сегмент	8 (26,7%)	11 (36,6%)	8 (22,8%)	13 (37,1%)
Отсутствие поражения артерий	8 (26,7%)		10 (28,7%)	

Таким образом, несмотря на различные варианты стенозов и окклюзии артерий у обследованных больных, данных о наличии критической ишемии не было. Статистических различий между группами не выявлено ($p=0,19$).

3.2.7 Характер выполненных первичных хирургических вмешательств в группах пациентов

Все пациенты, включенные в исследование, поступали с наличием гнойно-некротического процесса в области стопы (рис.10). В таблице 22 представлены выполненные первичные хирургические вмешательства у больных, включенных в ту или иную группу.

Как видно из представленной таблицы большинству пациентов на момент поступления было выполнено первичное хирургическое вмешательство. Группы по данному показателю не отличались. Однако, у 4 (11,4%) пациентов в группе контроля и у 1(3,3%) – в основной группе выполнения хирургического вмешательства не потребовалось, при этом $p=0,041$.

Таблица 22 - Характер первичных хирургических вмешательств у пациентов, включенных в исследование

Характер первичной хирургической операции	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Ампутация пальцев	6 (20,0%)	6 (17,1%)	0,44
Метатарзальная резекция стопы	1 (3,3%)	3 (8,6%)	0,07
Вскрытие абсцесса	13 (43,4%)	12 (34,3%)	0,52
Вскрытие флегмоны	4 (13,3%)	6 (17,2%)	0,91
Некрэктомия	5 (16,7%)	4 (11,4%)	0,87
Без хирургического вмешательства	1 (3,3%)	4(11,4%)	0,041



Рисунок 10 - Характер гнойно-некротических поражений на стопе на момент поступления в стационар

Объем выполненных хирургических вмешательств определялся индивидуально для каждого конкретного больного.

По срокам выполнения хирургических вмешательств на стопе большинство операций были срочными, что было обусловлено наличием острого гнойного процесса на стопе (рис. 10).

Пациентов с плановыми хирургическими вмешательствами на стопе в исследовании не было.

3.2.8 Микробиологическая характеристика раневых дефектов в группах больных до начала лечения

Клиническим материалом явилось раневое отделяемое, забор которого осуществлялся из очага гнойно-некротического поражения во время первичной хирургической обработки раны до назначения антибактериальных препаратов.

При анализе полученных результатов грамположительной флоры высевалось больше, чем грамотрицательной, как в основной, так и в контрольной группах.

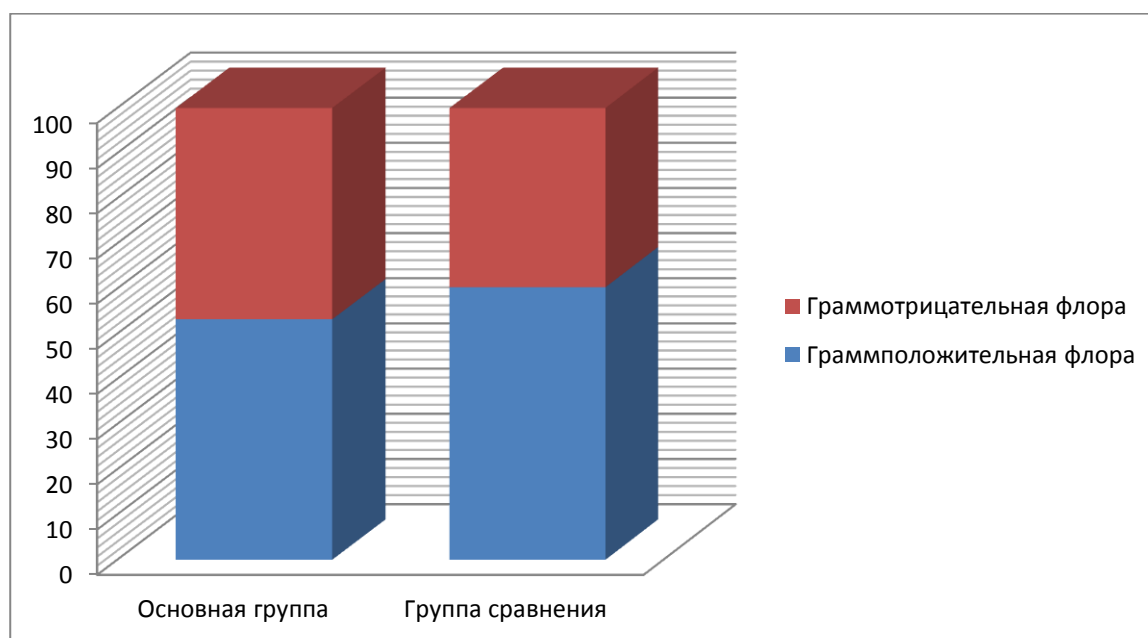


Рисунок 11 - Распределение выделенных штаммов по Грамму в группах пациентов до начала терапии (%)

Таким образом, грамположительная флора в группесравнения выделялась в 1,5 раза чаще, чем грамотрицательная, в основной группе в 1,1 раза. Статистически значимого различия по данному показателю в группах получено не было, $p=0,21$ (рис.11).

На момент госпитализации в стационар из ран пациентов, включенных в исследование, было выделено 135 штаммов микроорганизмов. Изучение микробного состава раневого отделяемого показало, что микрофлора в 48,2 % случаев выделялась в монокультуре. Микробные ассоциации, чаще всего двух- и трехкомпонентные, состояли из грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Сочетание двух грамотрицательных бактерий встречалось очень редко. В 42% всех ассоциаций составили сочетание золотистого стафилококка и *Enterococcus faecalis* (табл. 23).

Таблица 23 - Выделенные штаммы микроорганизмов из ран обследованных больных до начала лечения

Семейство	Штамм	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>	21 (33,9%)	29 (39,6%)	0,074
Enterobacteriaceae	<i>Enterobacter cloacae</i>	7 (11,4%)	5 (6,7%)	0,062
	<i>Escherichia coli</i>	6 (9,7%)	4 (5,4%)	0,37
	<i>Proteus vulgaris</i>	3 (4,8%)	3 (4,1%)	0,84
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3 (4,8%)	4 (5,4%)	0,71
	<i>Citrobacter braakii</i>	-	2 (2,6%)	-
Enterococcaceae	<i>Enterococcus faecalis</i>	12 (19,3%)	15 (20,5%)	0,73
Moraxellaceae	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	6 (9,7%)	7 (9,5%)	0,92
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 (6,4%)	3 (4,1%)	0,22
Нет роста		-	-	-
Всего		62 (100%)	72 (100%)	-

Как видно из вышеприведенной таблицы, по видовому составу выделенных микроорганизмов из ран больных, группы статистически не различались.

Присутствие в ране полирезистентных штаммов микроорганизмов всегда создает дополнительные проблемы, связанные с их высокой устойчивостью к антибактериальным препаратам.

Среди данных патогенов преобладали грамположительные микроорганизмы, которые были представлены золотистым стафилококком, способных к выработке бета-лактамаз, в том числе, расширенного спектра. В группах больных данный возбудитель встречался в практически равных долях: 12 штаммов в группе контроля и 10 штаммов в основной группе. Из грамотрицательных микроорганизмов нельзя не отметить штаммы *Klebsiella*, 100% которых имели полирезистентный характер. Особого внимания также требовали неферментирующие грамотрицательные микроорганизмы (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*), штаммы которых имели высокую резистентность к антибактериальным препаратам (табл. 24).

Таблица 24 - Выделенные полирезистентные штаммы из ран больных до начала лечения

Штамм	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
<i>S. aureus</i> (MRSA)	10 (16,1%)	12 (16,4%)	0,91
<i>A. baumannii</i>	6 (9,7%)	5 (6,7%)	0,22
<i>K. pneumoniae</i>	3 (4,8%)	4 (5,4%)	0,51
<i>P. aeruginosa</i>	3 (4,8%)	3 (4,1%)	0,84
Всего выделенных штаммов из ран	62 (100%)	73 (100%)	

Для изучения особенностей микробного пейзажа у обследованных больных, а также анализа причин выделения нозокомиальной и полирезистентной флоры, все пациенты были разделены по группам в зависимости от места лечения в анамнезе по поводу СДС (табл. 25).

Таблица 25 - Распределение пациентов включенных в исследование по наличию предшествовавших эпизодов лечения по поводу СДС в анамнезе

Группа	Не получавших лечение	Амбулаторное лечение	Стационарное лечение
Основная группа (n=30)	13 (43,3%)	7 (23,3%)	10 (33,4)
Группа сравнения (n=35)	15 (42,8%)	12 (34,3%)	8 (22,9%)

Как видно из таблицы 22, 20 (57,2%) больных контрольной группы и 17 (56,7%) пациентов в основной группе в анамнезе имели эпизоды амбулаторного либо стационарного лечения.

Таким образом, результаты исследования микрофлоры и количество выявляемых резистентных микроорганизмов зависят от критерия отбора пациентов для микробиологического исследования. Данные анализы выполнялись исключительно у пациентов, состояние которых требовало антибиотикотерапии. Возможно, если проводился бактериологический анализ отделяемого раневых и язвенных дефектов у всех пациентов, распространенность резистентных штаммов оказалась бы другой.

3.2.9 Состояние раневых дефектов у пациентов до начала лечения

Всем пациентам после выполненного первичного хирургического вмешательства выполнялась оценка состояния раневых дефектов, включавшая подсчет площади и глубины раны, определение степени по Wagner.

Раневые дефекты были достаточно обширными и глубокими после проведенной первичной хирургической обработки, что потребует различных способов пластики раны в периоперационном периоде (табл. 26).

На момент включения в исследование у всех больных наличие критической ишемии нижней конечности не подтверждено.

Таблица 26 - Состояние раневых дефектов до лечения у обследованных пациентов

Показатель	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Площадь раны до лечения, Me [Q25;Q75], см ²	19,4[17,3;22,1]	19,9[17,5;22,8]	0,33
Глубина раны до лечения, Me [Q25;Q75], см	3,3 [2,7; 3,8]	3,1[2,5; 3,7]	0,66
Meggitt/Wagner, Me [Q25;Q75], степень	3[2; 4]	2[2; 4]	0,23

Как видно из представленной выше таблицы, пациенты в группах статистически не различались по формам поражения, площади, глубине и стадиям раневого процесса.

3.2.10 Выраженность инфекционного процесса у обследованных больных до начала лечения

Для определения наличия инфекции, а также степени ее тяжести использовались классификационная система, разработанная Американским обществом инфекционистов (АОИ), и инфекционная часть классификации PEDIS.

Как видно из рисунка 12, группы статистически не различались по наличию и выраженности инфекционного процесса ($p > 0,05$). Пациенты, у которых отсутствовали системные или местные признаки инфекционного процесса, в исследование не включались. Как в контрольной, так и в основной группе преобладали пациенты со средней степенью инфекционного процесса. Так, у 24 пациентов группы сравнения и у 21 больного основной группы в инфекционный процесс были вовлечены такие анатомические структуры как кости, сухожилия, суставы. Однако, симптомы синдрома системной воспалительной реакции (ССВР) отсутствовали (рис. 12).

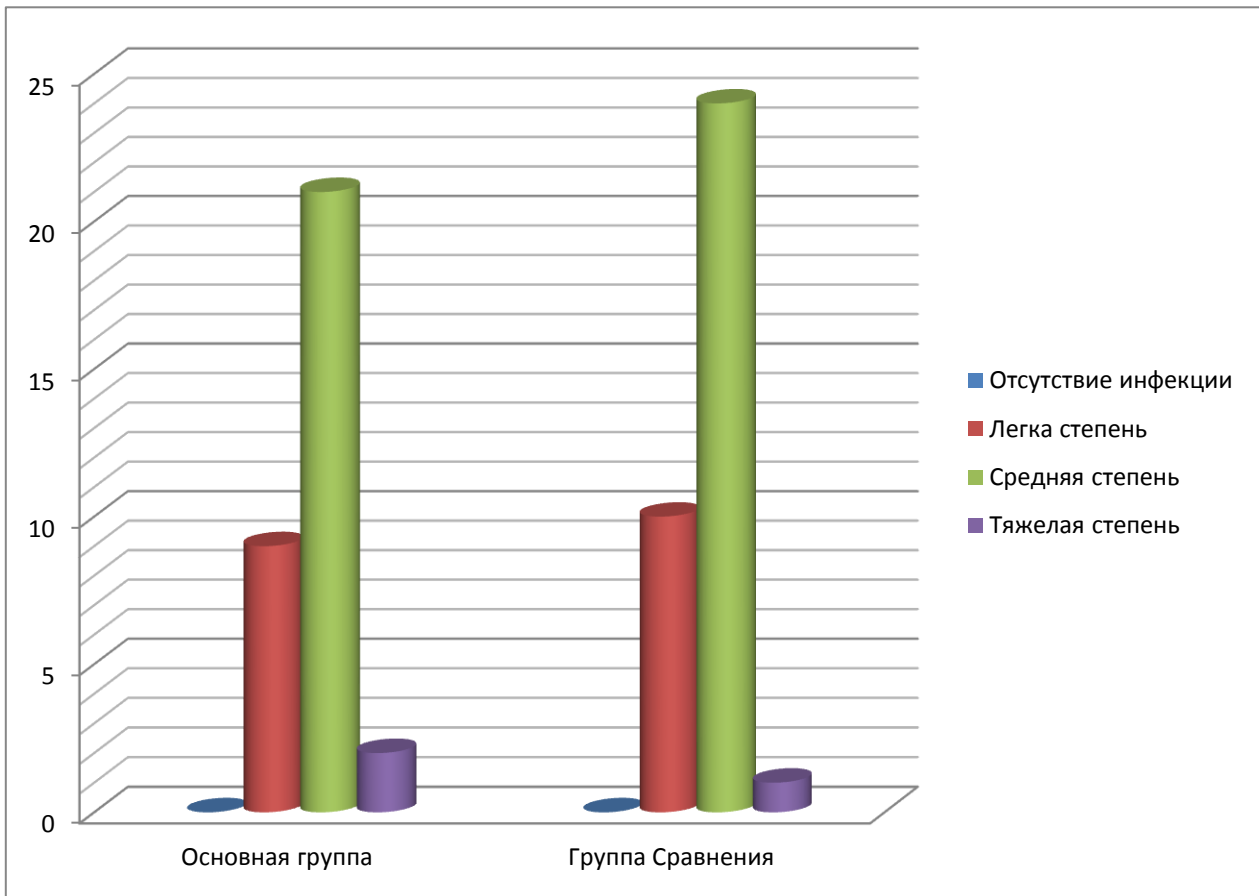


Рисунок 12 - Выраженность инфекционного процесса у обследованных пациентов

3.2.11 Цитологическая характеристика раневых дефектов у обследованных пациентов до лечения

При цитологическом исследовании отмечалось преобладание нейтрофильных лейкоцитов до $69,6 \pm 3,4$ в поле зрения пациентов 1 группы и до $74,0 \pm 2,1$ – в поле зрения у пациентов 2 группы ($p=0,07$). При этом, число дегенеративных форм составляло $62,8 \pm 2,4$ и $69,6 \pm 3,6$ (группа 1/ группа 2, соответственно)

Таблица 27 -Цитологическая характеристика раневых дефектов в группах до лечения

Показатель	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Фаза раневого процесса, Me [Q25;Q75]	1[1;1]	1[1;1]	1,0
Нейтрофильные лейкоциты (в поле зрения)	74,0±2,1	69,6±3,4	0,07
Фагоцитирующие нейтрофильные лейкоциты (в поле зрения)	4,4±0,8	6,2±0,5	0,09
Дегенерирующие нейтрофильные лейкоциты (в поле зрения)	69,6±3,6	62,8±2,4	0,84
Макрофаги (в поле зрения)	-	-	-
Полибласты (в поле зрения)	-	-	-
Микроорганизмы (в поле зрения)	++	++	1,0
Тип цитогаммы по Штейнбергу, Me [Q25;Q75]	1[1;1]	1[1;2]	0,89

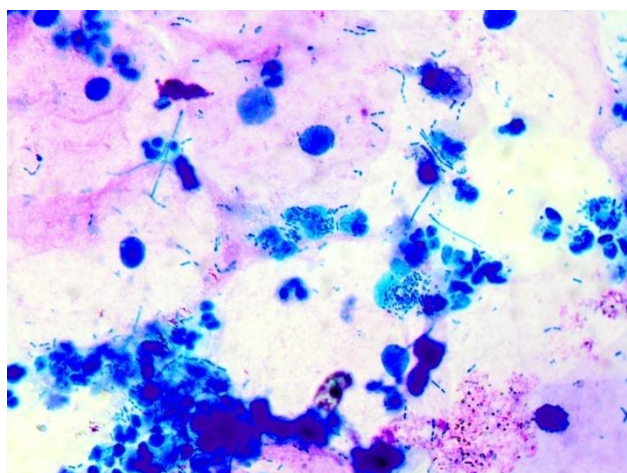


Рисунок 13 -Цитологическая картина мазков-отпечатков ран пациентов до лечения (Романовскому-Гимзе, x1000)

В цитограммах ран обеих групп в значительном количестве присутствовали микроорганизмы кокковой флоры.

Отмечалось полное отсутствие макрофагов и полибластов (лимфоцитов). Тип цитограмм (по Штейнбергу) у пациентов обеих групп соответствовал дегенеративно-воспалительному (табл. 27, рис. 13).

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВОДИМОГО ЛЕЧЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Лечение больных с гнойно-некротическими формами СДС является одной из трудных задач практической медицины, что подтверждается малой эффективностью большинства методов консервативного и хирургического лечения этой патологии. В своей практике мы придерживались активной хирургической тактики лечения ран и гнойно-некротических очагов.

Согласно рекомендациям отдела ран и раневых инфекций Института хирургии им. А.В. Вишневского в 1970 – 1980-х годах, что включало:

1. Радикальную хирургическую обработку (этапные хирургические обработки) гнойно-некротического очага.
2. Консервативную и хирургическую коррекцию артериального и/или венозного кровотока (при наличии показаний).
3. Местное лечение раны и адекватное дренирование.
4. Ранние реконструктивные кожные и костнопластические операции.

Обязательным условием лечения была полная разгрузка пораженной конечности на всех этапах лечения.

Консервативная терапия у больных с СДС заключалась:

1. Компенсации сахарного диабета, перевод на дробную инсулинотерапию;
2. Дезинтоксикационной терапии (по показаниям);
3. Антибактериальной терапии.

С момента поступления в стационар пациентам, как опытной, так и контрольной групп назначалась эмпирическая антибактериальная терапия цефалоспоридами III поколения. В стартовом лечении наиболее часто применяли цефалоспорины III, IV поколения (сульбактам + цефоперазон, цефепим). Больные основной группы дополнительно получали антибактериальный препарат группы макролидов, кларитромицин (Клацид, Abbott France (Франция)) в суточной дозе 1000 мг внутривенно на протяжении 10 дней.

С момента получения бактериологического ответа производилась коррекция антибактериальной терапии в зависимости от чувствительности выделенного бактериального агента.

4. Реологической и антикоагулянтной терапии (сулодексид; низкомолекулярные гепарины – фраксипарин, клексан, цибор).
5. Лечение сопутствующей патологии.

В качестве местного лечения раны применялись антисептики (Лавасепт, Бетадин, Йодопирон, Аквазан, Мирамистин), мази на полиэтиленгликолевой основе (Левомеколь, Офломелид, Стелланин-ПЭГ).

Пациентам, включенным в исследование, дополнительные и адъювантные методы лечения, применяемые в терапии СДС, не использовались.

4.1 Клиническая характеристика раневых дефектов стоп у пациентов после лечения

Регистрация планиметрических показателей производилась на фоне проводимого лечения, с момента очищения ран и начала появления грануляционной ткани. Медиана составила (Me [Q25;Q75], дни): в группе сравнения 10,8[9,1; 13,4] дней, в основной группе 8,0[6,3; 10,7] дней. Группы были сопоставимы по данному параметру ($p > 0,005$).

На фоне проводимого лечения в обеих группах зафиксировано сокращение размеров раневых дефектов, как площади, так и глубины.

Однако, статистических различий в разнице площади в группах выявлено не было ($p = 0,058$). Несмотря на это определяется четкая тенденция к более быстрому сокращению площади ран в основной группе.

Так, площадь ран в группе сравнения сократилась до 15,4 см²[13,2;17,7] (исходно 19,9 см²[17,5;22,8]), $p < 0,001$ и в основной группе до 14,2 см²[11,3; 16,4] (исходно 19,4 см²[17,3;22,1]), $p < 0,001$.

На рисунке 14 представлены показатели площади ран в исследуемых группах на фоне лечения.

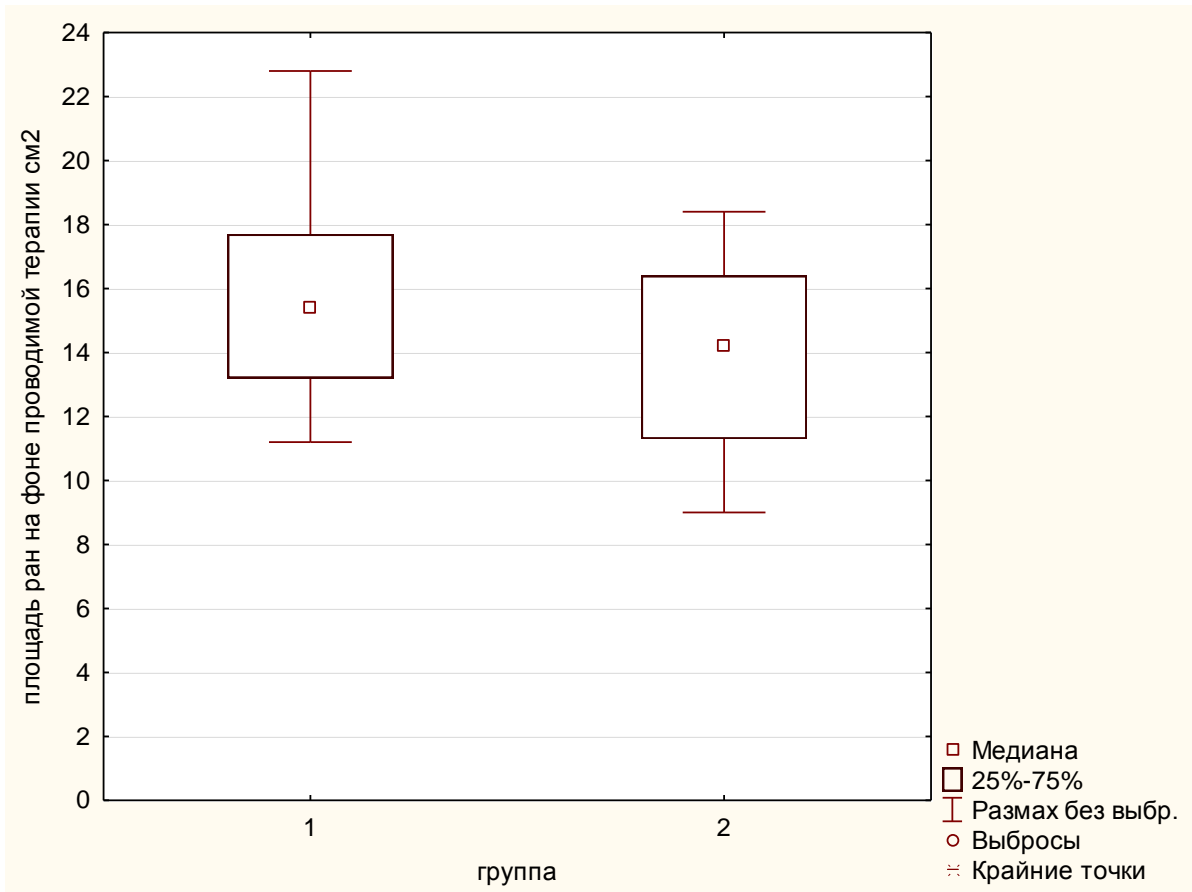


Рисунок 14 -Площадь ран в группах пациентов на фоне проводимого лечения

На фоне проводимого лечения глубина раневых дефектов в группе сравнения составила 2,5 см [2,0;2,9] (исходно 3,1[2,5;3,7]), $p < 0,001$, в основной группе – 1,7 см [1,3;2,4] (исходно 3,3[2,7;3,8]), $p < 0,001$. Однако, несмотря на такие различия в глубине раневых дефектов в группах, статистически достоверных различий получено не было $p = 0,066$.

На рисунке 15 представлены показатели глубины ран в исследуемых группах на фоне лечения.

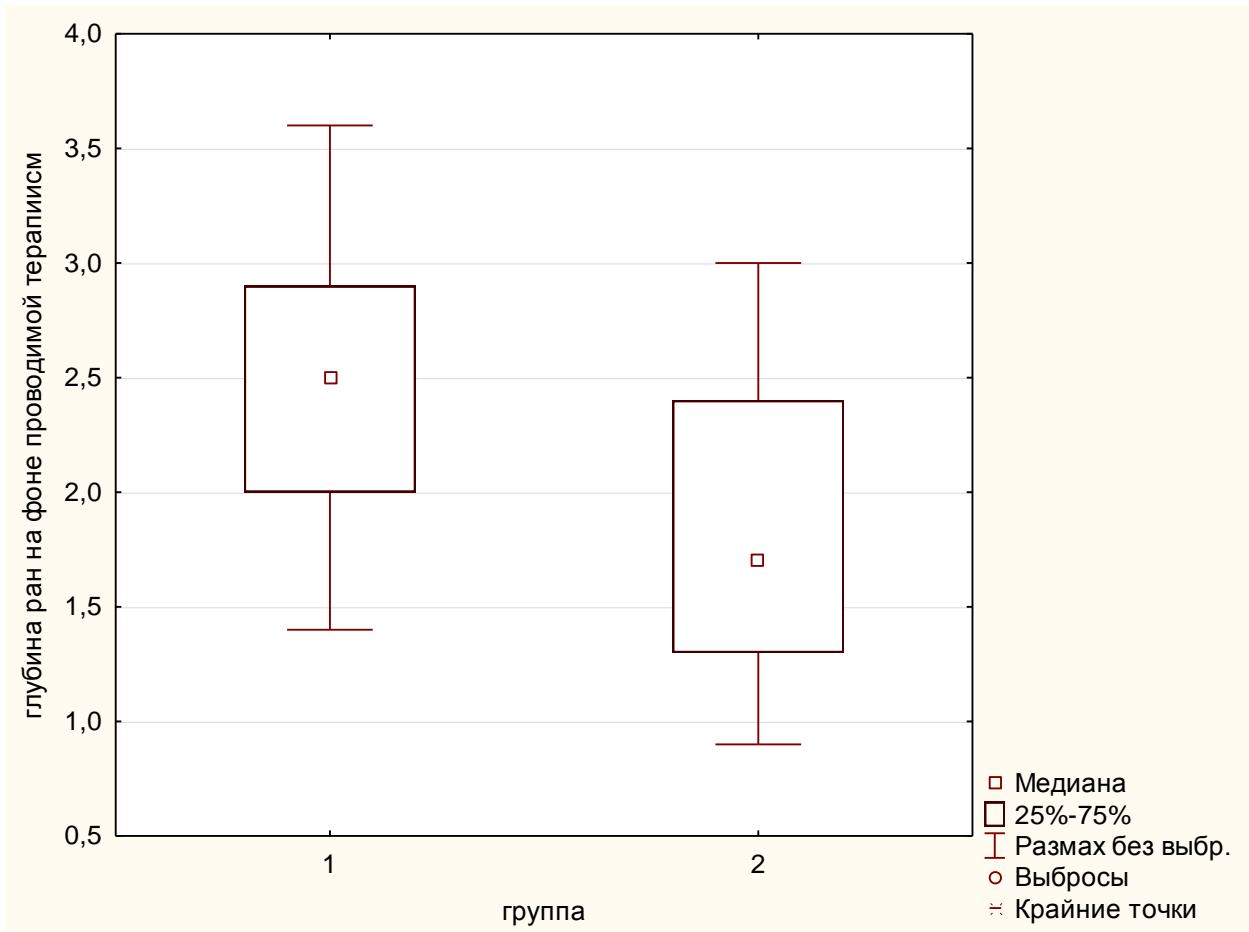


Рисунок 15 - Глубина ран в группах пациентов на фоне проводимого лечения

4.2 Динамика течения раневого процесса у обследованных больных на фоне проводимого лечения

При анализе раневого процесса статистически значимого купирования перифокального воспаления в группах больных выявлено не было. Уменьшение отека и гиперемии происходило в период с 6-х по 8-е сутки наблюдения. Появление грануляционной ткани в ранах пациентов основной группы происходило на 8[6,3; 10,7] сутки в среднем, тогда как в группе сравнения на 10,8[9,1; 13,4] сутки, при этом $p=0,021$.

Полное очищение раны с появлением здоровых мелкозернистых грануляций с очагами краевой эпителизации служило критерием окончания I фазы раневого процесса и переходом в репаративную фазу.

Таблица 28 - Динамика раневого процесса в группах больных на фоне проводимого лечения

Параметр	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Исчезновение отека, Ме [Q25;Q75] сут.	7,1[5,8; 10,4]	6,3[5,7; 9,1]	0,074
Исчезновение гиперемии, Ме [Q25;Q75] сут.	5,8[4,9; 7,7]	7,4[5,2; 8,1]	0,061
Исчезновение некроза (очищение раны), Ме [Q25;Q75] сут.	16,4[14,2; 18,1]	18,8[17,8; 20,1]	0,049
Появление грануляций, Ме [Q25;Q75] сут.	8,0[6,3; 10,7]	10,8[9,1; 13,4]	0,021
Длительность I фазы, Ме [Q25;Q75] сут.	18,3[14,7; 25,1]	23,0[21,6; 28,2]	0,012
Длительность II фазы, Ме [Q25;Q75] сут.	9,9[7,3; 14,2]	13,1[10,2; 18,7]	0,034

Таким образом, длительность I фазы раневого процесса в группах составила 23[21,6; 28,2] дня в среднем в группе сравнения, и 18,3[14,7;25,1] дня в среднем основной группы ($p=0,012$). Исходя из этого, в основной группе к окончательному этапу хирургического лечения – пластической реконструкции стопы удавалось прибегнуть в среднем на 4,7[3,1;6,9] суток раньше ($p=0,012$) (табл. 28).



Рисунок 16 - Количество пациентов, которым потребовалась повторная хирургическая обработка раны

Как видно из рисунка 16, повторное хирургическое вмешательство потребовалось 34 (52,3%) пациентам. В группе сравнения повторная хирургическая обработка раневого дефекта была выполнена 23 (65,7%) пациентам, из них 17(73,9%) один раз, у 6 (26,1%) более двух раз. В основной группе необходимость в повторной операции возникла у 11(36,7%) ($p=0,022$).

4.3 Динамика микробной обсемененности раневой поверхности у пациентов на фоне проводимого лечения

Определение уровня микробной обсемененности раны служило одним из основных критериев оценки течения раневого процесса и эффективности проводимой антибактериальной терапии.

При поступлении в стационар у больных как в основной, так и в группе сравнения микробная обсемененность раны была высокой и значительно превышала порог критического уровня (10^5 в 1г. тканей) (рис. 17).

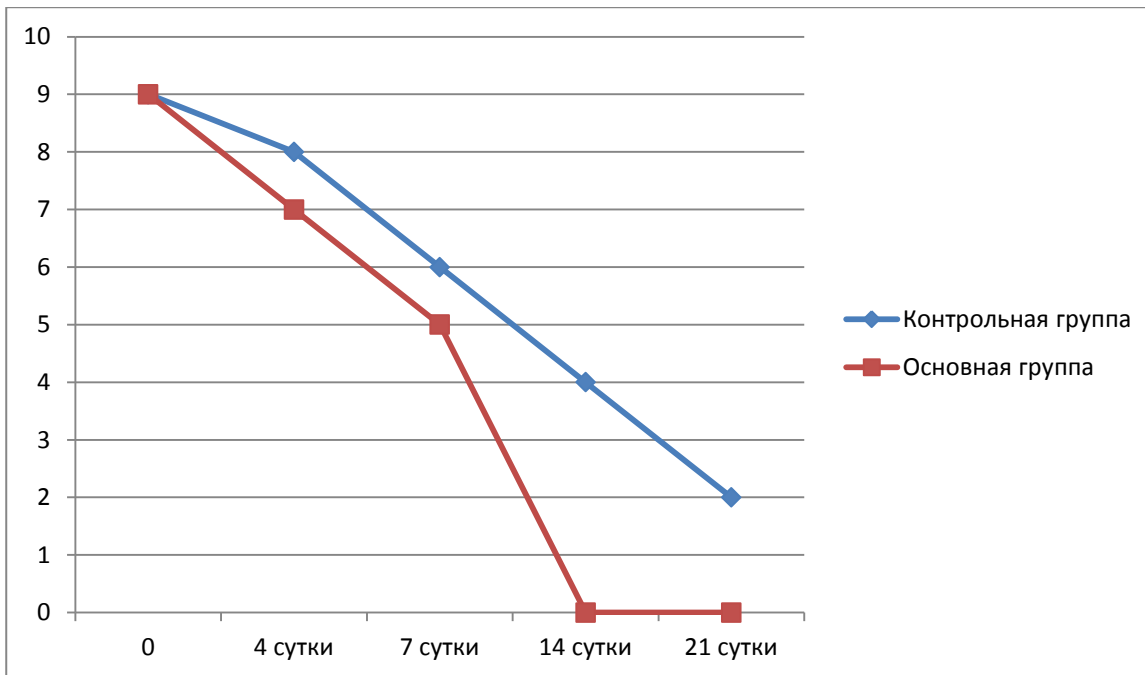


Рисунок 17 - Динамика микробной обсемененности раны, КОЕ/мл

В основной группе уже на 4-е сутки уровень обсемененности снижался до 10^7 , а на 7-е сутки составлял 10^5 . На 14-е сутки у пациентов основной группы патогенные микроорганизмы из ран не высевались, при этом в группе сравнения бактериальная обсемененность раневого поля в этот период варьировала от 10^3 до 10^5 КОЕ. Динамика количественного изменения микробной обсемененности ран у больных основной и группы сравнения представлены на рисунке 17.

4.4 Цитологическая характеристика течения раневого процесса на фоне проводимого лечения

Динамическое наблюдение за течением раневого процесса включало исследование цитологических отпечатков с поверхности ран.

При цитологическом исследовании исходно в обеих группах отмечена полная клеточная ареактивность – в мазках-отпечатках выявляли детрит и остатки разрушенных нейтрофилов, массивная микрофлора располагалась

внеклеточно. Тип цитограмм, как основной, так и контрольной группы соответствовал дегенеративно-воспалительному.

Таблица 29 - Динамика цитологической картины раневого процесса в группах больных на фоне проводимого лечения, $M \pm m$

Показатель	Группа пациентов	Сроки лечения, сутки			
		4-е	7-е	14-е	21-е
Нейтрофильные лейкоциты	Контрольная	80,4±1,2	79,3±1,5	69,1±1,4	40,3±1,8
	Основная	72,6±2,1*	67,1±1,8	60,3±1,4*	34,7±1,6
Фагоцитирующие нейтрофильные лейкоциты	Контрольная	7,4±2,2	24,3±1,7	36,4±1,5	12,6±1,3
	Основная	14,8±2,1*	22,8±1,6*	30,1±2,1*	9,9±1,4
Фибробласты	Контрольная	3,3±0,7	9,1±0,8	10,4±1,9	12,6±1,6
	Основная	6,2±0,7	11,1±1,4	16,0±0,8*	17,4±0,8*
Макрофаги	Контрольная	3,2±0,6	4,6±1,3	8,2±2,3	10,4±1,8
	Основная	6,7±0,5	9,2±0,3*	11,3±2,2*	10,5±1,1
Лимфоциты	Контрольная	1,6±0,6	2,5±0,2	3,1±0,7	2,8±0,5
	Основная	2,6±0,2	2,6±0,2	2,3±0,2	2,0±0,9
Полибласты	Контрольная	5,5±1,2	5,7±1,8	9,2±1,5	11,3±1,8
	Основная	7,1±1,5	9,1±1,0	12,4±0,8*	12,8±1,6
Микрофлора	Контрольная	++	++	+	+-
	Основная	++	+	+- *	- *

Примечание: *- $p < 0,05$

В цитограммах основной группы исследования на 4-е сутки от начала лечения определялись слабые признаки воспалительной реакции. В мазках содержалось большое число нейтрофилов в состоянии дегенерации и деструкции в виде кариопикноза и кариорексиса, цитолиза. Выявлены признаки фагоцитарной активности более сохраннных нейтрофилов-внутриклеточное расположение микробов, хотя фагоцитоз преимущественно был не завершённый.

К 7-м суткам в цитограммах основной группы нейтрофилы средней степени сохранности составили 85-90%, а 5-10% клеток приходилось на долю лимфоцитов и моноцитов, отдельных макрофагов и полибластов. Микрофлора чаще обнаруживалась в умеренном количестве, в состоянии завершённого фагоцитоза (рис. 18).

При исследовании мазков-отпечатков на 14-е сутки количество нейтрофилов уменьшалось до 60-70%, а сохранность их увеличивалась. 20-

35% клеток составляли тканевые недифференцированные полибласты, фибробласты, лимфоциты. Макрофаги из этого числа составляли 5-10%, что соответствовало процессу очищения раны. Микрофлора выявлена в небольшом количестве в состоянии активного фагоцитоза.

На 21-е сутки в основной группе выявлен регенераторный тип цитограммы. Содержание нейтрофилов составило 40-50%. Преобладали молодые клетки грануляционной ткани, фибробласты, макрофаги, эндотелий, полибласты. У большинства пациентов выявлены признаки краевой эпителизации. Микрофлора отсутствовала.

Цитологическая картина у пациентов группы сравнения имела значительные отличия от цитограмм основной группы. В цитограммах на 4-е сутки сохранялись детрит и внеклеточная микрофлора. К 7-м суткам доля нейтрофилов средней степени сохранности составила 75-80%, фагоцитоз носил незавершенный характер. Микрофлора находилась в начальной стадии переваривания. К 14-м суткам сохранялось высокое содержание в мазках нейтрофилов (75-80%). На долю молодых клеток соединительной ткани приходилось 10-15%. Фагоцитоз начинал носить завершенный характер (табл. 29).

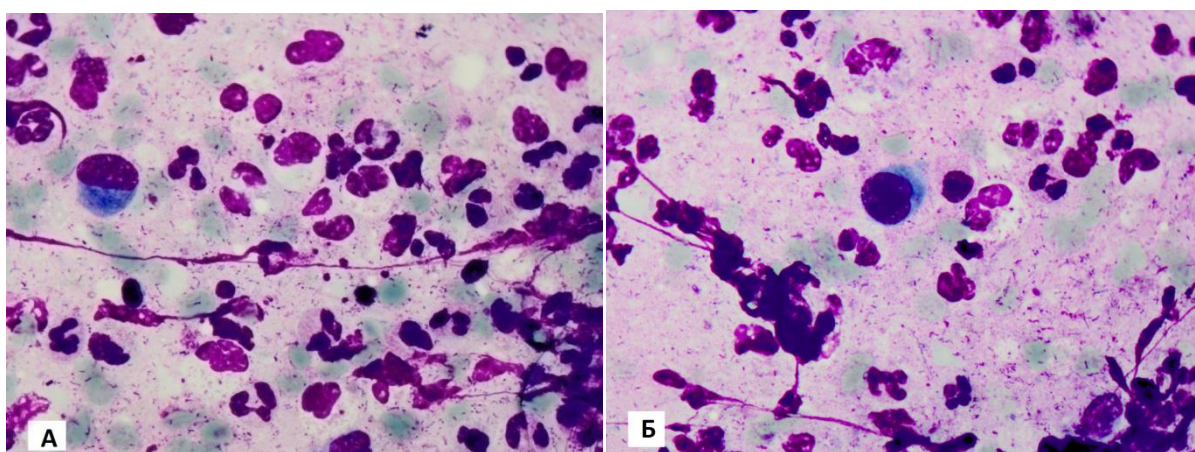


Рисунок 18 - Цитологическая картина мазков-отпечатков ран пациентов на 7-е сутки лечения (Романовскому-Гимзе, x1000) (*Обозначения:* А - Основная группа; Б – Группа сравнения)

Для отображения динамики воспалительного процесса в ране рассчитывали клеточный индекс, где в числителе - клетки, характеризующие репаративные процессы, а в знаменателе - клетки, отображающие воспалительные процессы. Таким образом, клеточный индекс был обратнопропорционален выраженности воспалительного процесса в ране.

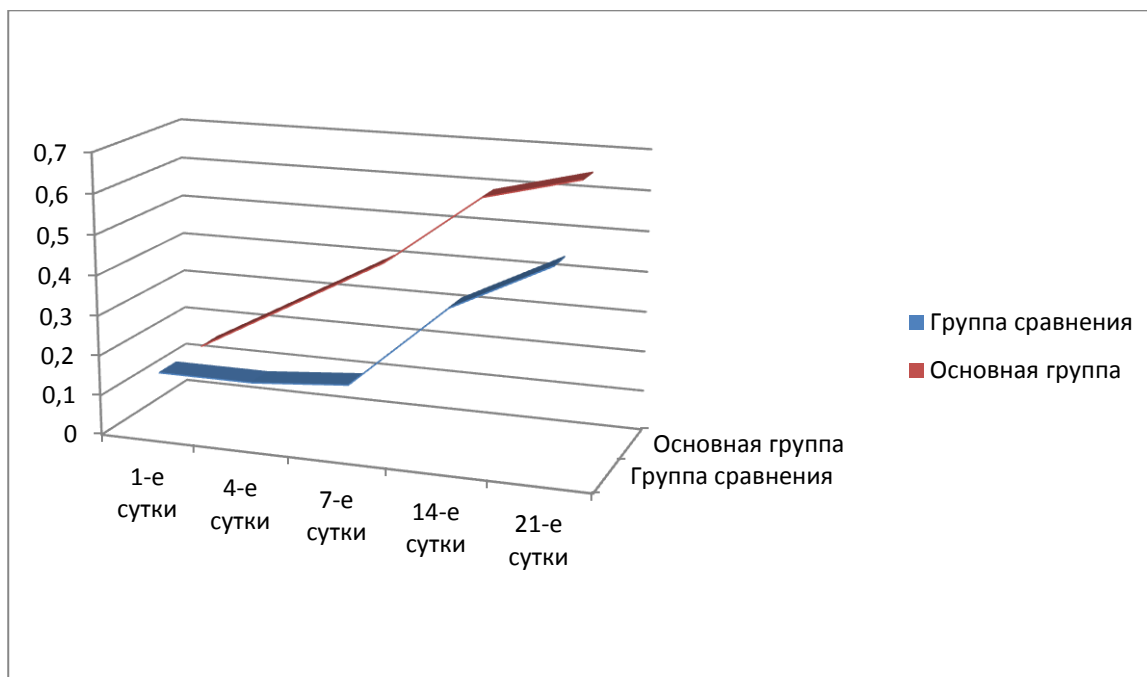


Рисунок 19 - Клеточный индекс раневого отделяемого в группах пациентов на фоне проводимого лечения

Из рисунка 19 отмечено, на основании увеличения клеточного индекса- достоверное, более быстрое снижение воспалительного процесса в ранах больных основной группы. Данное наблюдение регистрировалось, начиная с четвертых суток наблюдения и сохранялось на всем протяжении ($p < 0,05$).

4.5 Результаты пластического закрытия раневых дефектов на стопе в группах пациентов

Современный подход к лечению диабетической стопы (ДС) предполагает помимо сохранения опорной функции конечности сокращение сроков лечения, оптимизацию биомеханики сохраненной части стопы, предотвращение

рецидивов заболевания [6,29]. Выполнение всех этих задач немыслимо без скорейшего и полноценного закрытия раневой поверхности.

Таблица 30 - Способы пластического закрытия раневых дефектов в группах пациентов

Вид кожной пластики раны	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)
Местными тканями	16 (53,3%)	20 (57,1%)
Дерматомная аутодермопластика	9 (30,0%)	12 (34,3%)
Пластика перемещенным кожным лоскутом	1 (3,3%)	-
Комбинированная кожная пластика (дерматомная аутодермопластика + местными тканями)	4 (13,4%)	3 (8,6%)
Всего	30 (100%)	35 (100%)

Для пластического закрытия раневых дефектов, как в группе сравнения, так и в основной группе в более чем 50% случаев применялась кожная пластика местными тканями. Данный способ получил у нас распространение с внедрением в практику точечного вертикального матрацного шва, который сводил до минимума площадь кожи, расположенную под нитью и, следовательно, в наименьшей степени ишемизировал края раны.

Дерматомная кожная пластика применялась приблизительно в равных долях в обеих группах, что составило 12 (34,3%) ран в группе сравнения и 9 (30,0%) – основной группы.

Пластика перемещенным кожным лоскутом выполнена в 1 случае пациенту основной группы. Осложнений не наблюдали (табл. 30).

Результаты кожной пластики представлены в таблице 31. При выполнении дерматомной аутодермопластики в основной группе (9 человек) осложнений приживления кожного трансплантата не отмечено. В группе

сравнения зарегистрирован 1(8,3%) случай полного отторжения кожного лоскута и у 3(25%) пациентов отмечался лизис части трансплантата ($p=0,001$).

Таблица 31 - Результаты кожной пластики в группах пациентов %

Вид пластики	Основная группа (n=30)	Группа сравнения (n=35)	p-value
Дерматомная, n= неприживление приживление осложненное приживление неосложненное	9 0 0 9(100%)	12 1(8,3) 3(25,0%) 8(66,7%)	0,001
Местными тканями, n= нагноение некроз локальный заживление неосложненное	17 0 1(5,9%) 16(94,1%)	20 1(5,0%) 1(5,0%) 18 (90,0%)	0,068
Комбинированная, n= заживление раны	4 100%	3 100%	1,0

Возможно, что риски осложненного приживления (25%) кожного трансплантата в группе сравнения связаны с сохранением микробной обсемененности раны в более поздние сроки наблюдения (в отличие от основной группы), а также с более длительным воспалительным процессом в ране.

При анализе ближайших результатов пластики ран местными тканями в группах пациентов статистически значимых различий не выявлено. Однако, в 1 (5,0%) случае в группе контроля отмечено нагноение раны на 3-е сутки, что потребовало снятия швов. Нагноения ран у пациентов основной группы не было.

4.6 Клинические случаи лечения пациентов с нейропатической и нейроишемической формой синдрома диабетической стопы

• Клинический случай 1

Больная Д., 67 лет находилась на стационарном лечении в отделение гнойной хирургии ГБОУ РО ГК «БСМП» с 12.06.2016 по 16.07.2016.

При поступлении предъявляла жалобы на покраснение, отек, боли в левой стопе, повышение температуры тела до 38,5°C, слабость.

Со слов, больна около 5-ти дней, когда появились вышеуказанные жалобы, за медицинской помощью не обращалась.

Из анамнеза - сахарный диабет 2 типа, получает пероральные гипогликемические препараты.

Клинический диагноз:

Основной диагноз: Сахарный диабет 2 типа.

Осложнение основного заболевания: Синдром диабетической стопы, нейроишемическая форма. Флегмона левой стопы, н/3 голени.

Сопутствующие заболевания: ИБС: диффузный кардиосклероз. Гипертоническая болезнь 2ст., 2ст., риск 4. Хроническая сердечная недостаточность 2А, ФК 2. Ожирение I степени.

Из анамнеза известно, что сахарным диабетом 2 типа страдает около 12 лет. Получает пероральную сахароснижающую терапию. Диету не соблюдает. Контроля гликемии не проводилось. Со слов, больна около 5-ти дней, когда без видимой причины появились боли в левой стопе, отек, гиперемия. За медицинской помощью не обращалась. Ухудшение около 2-х дней, когда стала нарастать слабость, повышение температуры тела до 38,5°C. 12.06.2016 доставлена бригадой скорой медицинской помощи в ГБОУ РО ГК БСМП, госпитализирована в отделение гнойной хирургии.

Данные осмотра при поступлении

На момент поступления, состояние средней степени тяжести, в сознании, заторможена. Конституция гиперстеническая. Индекс массы тела (ИМТ) 31,70

кг/м². Кожные покровы: бледноватой окраски, сухие, тургор снижен. Видимые слизистые чистые. Лимфатические узлы не увеличены. В легких дыхание проводится во все отделы, везикулярное, хрипов нет, ЧДД 22 в мин. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. АД – 140/90 мм.рт.ст., ЧСС – 90 в мин. По остальным органам и системам – без особенностей.

St. localis при поступлении: Стопа и н/3 голени гиперемирована, резко отечна, пальпация болезненна с признаками флюктуации. У основания 1-го пальца свищ около 0,5 см в диаметре с гнойным отделяемым. Стопа на ощупь теплая. При пальпации магистральных сосудов: пульс на общей бедренной и подколенной артерии удовлетворительный, ниже не определяется за счет выраженного отека мягких тканей.

Лабораторные анализы: Нв -116 г/л, Нт – 37,8%, эритроциты $-4,32 \cdot 10^{12}/л$, лейкоциты $-21,98 \cdot 10^9/л$, эозинофилы – 0%, базофилы – 0%, п/я – 18%, с/я – 55%, лимфоциты – 32%, моноциты – 2%. СОЭ – 54 мм/мин.

Глюкоза крови – 21,2 ммоль/л.

Гликированный гемоглобин – 10,2%.

ЭКГ от 12.06.2016г. Ритм синусовый с ЧСС 88 в мин., горизонтальное положение электрической оси сердца. Неполная блокада левой ножки пучка Гиса. Гипертрофия левого желудочка.

После проведенной предоперационной подготовки компенсации СД, 12.06.2016 выполнена операция: трансметатарзальная ампутация, вскрытие флегмоны стопы, н/3 голени.

В послеоперационном периоде:

1. Инсулин Актрапид 10ЕД * 3 раза в сутки под контролем глюкозы крови.
2. Бисопролол 5мг. обед.
3. Лизиноприл 10 мг. * 2 раза.
4. Индапамид 2,5 мг. утро.
5. Аторвастатин 20мг. вечер
6. Ацетилсалициловая кислота 75мг. вечер
7. Фраксипарин 0,3 мл. п/к. 1 раз в сутки

8. Цефтриаксон 1,0 в/в капельно * 2раза/сутки (с 12.06.2016 по 15.06.2016)
9. Клацид 500мг в\в капельно * 2 раза/сутки (с 12.06.2016 по 22.06.2016)
10. Метрогил 100мг. в/в капельно * 3 раза/сутки (с 12.06.2016 по 17.06.2016)
11. Местное лечение раны: перевязки с мазями на ПЭГ основе с использованием жидких антисептиков.
12. Разгрузка нижних конечностей с помощью кресла-каталки.

Бактериологическое исследование раневого отделяемого:

В исследуемых образцах выделены:

- Acinetobacter Baumannii (10^6)
- Pseudomonas aeruginosa (10^6)
- Staphylococcus aureus (10^5), чувствительный к оксациллину

Смена антибактериальной терапии:

Цефоперазон 2,0г в/в капельно *2 раза/сутки (15.06.2016 по 29.06.2016)

Клацид 500мг в\в капельно * 2 раза/сутки (с 12.06.2016 по 22.06.2016)

20.06 и 24.06.2016 г. Выполнены этапные хирургические обработки раневого дефекта, некрэктомия.

На фоне проводимого лечения отмечается положительная динамика, рана в н\3 голени гранулирует, 29.06.2016г. выполнена кожная пластика раны голени местными тканями.

05.07.2016г.– дерматомная аутодермопластика раневого дефекта на стопе.

На момент выписки из стационара **St. localis**: Отека, гиперемии стопы нет, область швов без признаков воспаления. Швы сняты. Полное приживление кожного трансплантата.

Пациентка выписана из стационара в удовлетворительном состоянии с рекомендациями.

На рисунке 20 представлена динамика внешнего вида раневого дефекта больной Д. на фоне проводимого лечения.



Рисунок 20 - Динамика состояния раневого дефекта на фоне проводимого лечения (**Обозначения:** А - Внешний вид стопы на момент поступления в стационар; Б - Внешний вид стопы на 14-е сутки лечения; В - Внешний вид стопы на 19-е сутки; Г - Внешний вид стопы перед выполнением дерматомной аутодермопластики; Д - 3-е сутки после пересадки кожного трансплантата; Е - Внешний вид стопы на момент выписки из стационара)

- **Клинический случай 2**

Больной Р., 64 лет находился на стационарном лечении в отделении гнойной хирургии ГБУ РО ГКБСМП с 04.09.2017 по 27.09.2017

При поступлении жалобы на боли и покраснение правой стопы после механической травмы. Повышение температуры тела до 37,9°C.

Клинический диагноз:

Основной диагноз: Сахарный диабет 2 типа.

Осложнение основного заболевания: Синдром диабетической стопы, нейропатическая форма. Абсцесс медиальной поверхности правой стопы.

Сопутствующие заболевания: Гипертоническая болезнь 3ст., 3ст., риск 4. Язвенная болезнь желудка, ремиссия.

Из анамнеза известно, что страдает сахарным диабетом 2 типа около 5-ти лет. Получает пероральную сахароснижающую терапию. Гликемию измеряет 2 раза в сутки, показатели в пределах 5,6 – 11,0 ммоль/л.

Со слов, около 3-х дней назад заметил покраснение стопы после ношения неудобной обуви. За медицинской помощью не обращался. Стал отмечать увеличение красноты, появление боли в стопе, повышение температуры тела. 04.09.2017 обратился в поликлинику по месту жительства, направлен в отделение гнойной хирургии ГБУ РО ГКБСМП. Госпитализирован.

Данные осмотра при поступлении

На момент поступления состояние относительно удовлетворительное. Конституция гиперстеническая. Кожные покровы обычной окраски. Видимые слизистые чистые. Лимфатические узлы не увеличены. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Тоны сердца приглушены, ритм правильный. АД – 160/90 мм.рт.ст., ЧСС – 76 в мин. Живот мягкий, без болезненный, перитонеальных симптомов нет. Симптом поколачивания отрицательный.

St. localis при поступлении: Кожа стоп сухая, на ощупь теплая. Правая стопа отечна, гиперемирована. По медиальной поверхности определяется инфильтрат 5*4 см., с признаками флюктуации, пальпация резко болезненна. Тактильная, температурная, вибрационная чувствительность – снижены. Пульсация ТАС и ЗББА – сохранена.

Лабораторные анализы: Нв -136 г/л, Нт – 37,8%, эритроциты $-4,52 \cdot 10^{12}/л$, лейкоциты $-10,98 \cdot 10^9/л$, эозинофилы – 0%, базофилы – 0%, п/я – 16%, с/я – 55%, лимфоциты – 32%, моноциты – 2%. СОЭ – 54 мм/мин.

Глюкоза крови – 12,2 ммоль/л.

Гликированный гемоглобин – 9,6%.

04.09.2017 выполнена операция: вскрытие абсцесса.

Проведено лечение:

1. Инсулин Актрапид БЕД * 3 раза в сутки под контролем глюкозы крови.
2. Индопамид 2,5 мг.утро.
3. Бисопролол 5мг. Обед.
4. Престариум 5мг * 2 раза.
5. Омез 20 мг 1т за 30 минут до еды
6. Цефтриаксон 1,0 в/в капельно * 2 раза/сутки (с 04.09.2017 по 16.09.2017)
7. Кларитромицин 500мг в\в капельно * 2 раза/сутки (с 04.09.2017 по 14.09.2017)
8. Местное лечение раны: перевязки с мазями на ПЭГ основе и с использованием жидких антисептиков.
9. Разгрузка нижних конечностей с помощью кресла-каталки.

Бактериологическое исследование раневого отделяемого:

- *Enterococcus faecalis* (10^8)
- *Staphylococcus aureus* (10^6)

Выделенные штаммы чувствительны к цефалоспорины III поколения.

Послеоперационный период гладкий. 15.09.2016 выполнена пластика раны местными тканями. На момент выписки отека, гиперемии стопы нет, область швов без признаков воспаления. Швы сняты.

На рисунке 21 представлен внешний вид стопы пациента Р. На фоне проводимого лечения.

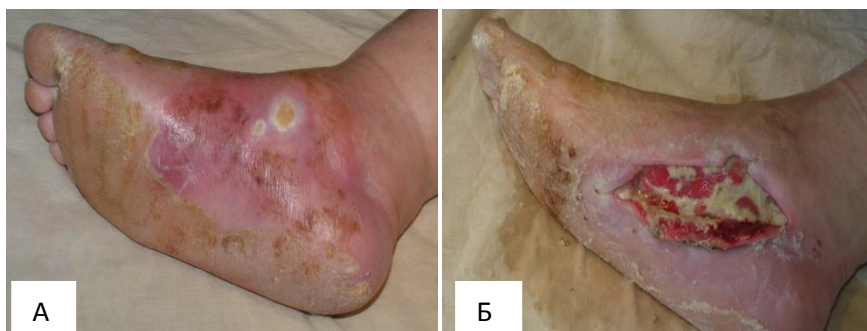




Рисунок 21 – Внешний вид стопы на фоне проводимого лечения (*Обозначения:* А – Вид стопы на момент поступления в стационар; Б – Вид раны на 12-е сутки госпитализации; В – Вид стопы после пластики раны местными тканями; Г – Вид стопы на момент выписки из стационара)

4.7 Длительность пребывания в стационаре

При анализе длительности госпитализации отмечено увеличение койко-дня у пациентов обеих групп с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы (рис. 22).

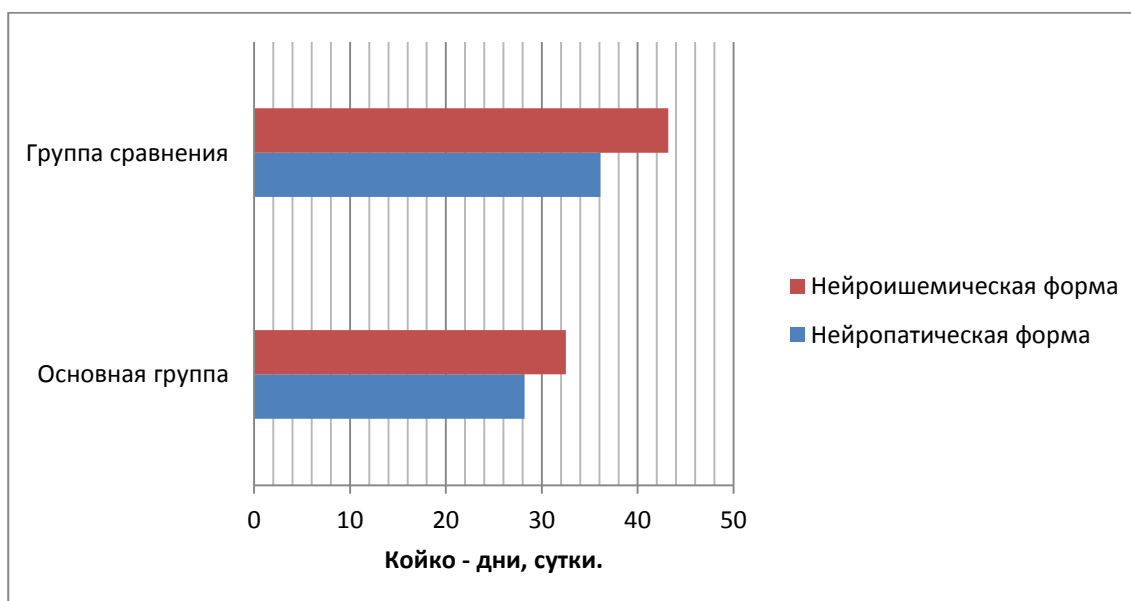


Рисунок 22 - Сроки госпитализации пациентов, включенных в исследование, сутки, Ме.

Как видно из рисунка 22, средние сроки госпитализации у пациентов основной группы оказались значительно меньше больных группы контроля. Так, у пациентов с нейропатической формой СДС в основной группе средняя длительность пребывания на стационарном лечении составила 28,2[20,0;39,3] суток, что на 4,2[3,4;7,9] суток меньше, чем в группе сравнения ($p=0,41$). А у

пациентов с нейроишемической формой СДС 32,5[24,3;39,7] суток, что на 5.1[2,3;6,8] суток меньше группы сравнения ($p=0,66$).

Несмотря на то, что статистических различий в разнице сроков пребывания в стационаре в основной и контрольной группах не было ($p=0,55$), определялась четкая тенденция к сокращению койко-дня в основной группе пациентов.

Достигнуть сокращения среднего койко-дня в основной группе удалось за счет сокращения длительности как I фазы раневого процесса (18,3[14,7;25,1] суток против 23,0[21,6;28,2] – группы контроля ($p=0,049$)), так и за счет репаративной фазы раневого процесса (9,9[7,3;14,2] суток против 13,1[10,2;18,7] суток контрольной группы ($p=0,021$)).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Инфекция стопы представляет собой распространенную медицинскую проблему у больных диабетом, связанную с длительностью заболевания и, следовательно, с вероятностью осложнений диабета [17,151].

Патогенез развития гнойно-некротического процесса един у всех больных, в том числе и у пациентов с сахарным диабетом, но течение раневого процесса имеет ряд отличительных особенностей. У пациентов с СДС снижена антиинфекционная резистентность организма, чему способствует нарушение местных тканевых реакций, угнетение фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов, незавершенный фагоцитоз, сниженный хемотаксис, высокая микробная обсемененность раневой поверхности [31,107,167].

Таким образом, антибактериальная терапия наряду с хирургическими способами санации инфекционного очага, является основным методом лечения данной патологии.

Поэтому, понимание принципов антибиотикотерапии, а также проведение сравнительных исследований различных видов противoinфекционной терапии при инфекции диабетической стопы может способствовать улучшению результатов лечения пациентов с гнойно-некротическими осложнениями СДС [74,81,97,126].

В связи с поставленной целью была выполнена экспериментальная работа на базе вивария ЦНИЛ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Опыты были проведены на 75 белых крысах-самцах, линии Wistar, массой 200 - 220г. Лабораторным животным были сформированы модели аллоксанового диабета и модель полнослойной плоскостной инфицированной кожной раны спины. Все животные были разделены на три равные группы. **Первая группа** – интактный контроль, местной и общей терапии животные не получали. **Вторая группа** – опытная 1, животные которой получали внутримышечные инъекции кларитромицина по установленной схеме (150 мг/кг/сут. в течение 10 суток). **Третья группа** – опытная 2, крысы которой получали внутримышечные

инъекции препарата цефтриаксон по схеме 50 мг/кг/сут. В течение 10 дней. Местное лечение раневых дефектов в группах животных не проводилось. Животные выводились из эксперимента по пять особей из каждой группы на 3, 7, 14, 21 и 28-е сутки для забора материала и контроля за раневым процессом.

В эксперименте показана способность макролидов взаимодействовать с нейтрофилами крови крыс, что имело определенное значение для антибактериальной активности препарата.

При анализе планиметрических исследований динамики заживления полнослойных кожных ран не выявлено статистически достоверного отличия уменьшения площади раневых дефектов в группах животных, получавших антибактериальные препараты группы макролидов и цефалоспорины III поколения. При сравнении опытных групп с интактным контролем отмечено достоверное сокращение площади ран начиная с 7-х суток наблюдения и на всем протяжении эксперимента ($p < 0,05$).

Оценивая скорость заживления ран, у экспериментальных животных различных групп было отмечено достоверное увеличение скорости на 3-е, 7-е и 14-е сутки у животных в опытных группах по сравнению с контролем. Опытные группы по данному параметру не отличались.

При анализе цитограмм, полученных из ран животных, в разные сроки эксперимента отмечено увеличение количества фагоцитирующих нейтрофильных лейкоцитов в 2 раза и рост количества завершеного фагоцитоза на 38,5% в группе животных, получавших инъекции антибактериального препарата группы макролидов.

При анализе бактериального фагоцитоза в группах животных (тест Нестеровой И.В., 1996) отмечено увеличение числа активно-фагоцитирующих клеток у крыс, получавших инъекции кларитромицина. Так, на 10-е сутки показатели ФАНабс (абсолютное содержание активно фагоцитирующих клеток) были в 1,8 раза выше контрольной группы ($p = 0,022$) и в 1,2 раза выше таковых группы крыс, получавших цефалоспорин ($p = 0,034$).

При более детальном анализе отмечено, что в группе животных, получавших кларитромицин, привело не только к увеличению числа активно фагоцитирующих клеток, но и к увеличению их поглотительной способности, о чем свидетельствовал рост фагоцитарного индекса (ФИ), наиболее выраженный на 10-е сутки эксперимента. Данный показатель превосходил в $1,27 \pm 0,05$ раза контрольную группу ($p=0,039$) и в $1,32 \pm 0,08$ раза показатели группы крыс получавших цефтриаксон ($p=0,026$).

Оценивая завершенность фагоцитарного акта нейтрофильных гранулоцитов периферической крови крыс, отмечено увеличение индекса переваривания бактериального агента у животных, получавших терапию кларитромицином, что превосходило в $1,96 \pm 0,03$ раза показатели контрольной группы и в $1,53 \pm 0,05$ – группы опыт 2 ($p < 0,05$).

Таким образом, учитывая показатели фагоцитарной активности крови крыс опытной группы животных, получавших инъекции кларитромицина, статистически достоверно прослеживалась тенденция к росту данных показателей, что снижало риски вторичного инфицирования ран и создавало условия для репаративного процесса.

Биоцидность, или способность к уничтожению живых объектов, является итоговым феноменом, в котором сфокусированы практически все звенья эффекторного потенциала НГ – рецепция, адгезия, хемотаксис, поглощение и образование фаголизосом, секреторная дегрануляция, метаболический взрыв.

При этом основные дефекты НГ связаны со снижением показателей адгезии и фагоцитоза, одержания неферментных катионных белков и оксидазной биоцидности клеток [107,155,167]. Поэтому, при изучении оксидазной биоцидности НГ периферической крови крыс наибольший интерес представляли данные в условиях дополнительной антигенной нагрузки (стимулированный NBT-тест), что позволяло выявить скрытые нарушения оксидазной биоцидности клеток. При этом было статистически доказано, что в поздние сроки ответ на антигенную нагрузку (*Staphylococcus aureus* (штамм 209)), оцениваемый по коэффициенту мобилизации, был более высоким в

группе животных, получавших инъекции антибактериального препарата группы макролидов, что говорило о более адекватном реагировании нейтрофильных гранулоцитов на бактериальный агент. Так коэффициент мобилизации (КМ) на 10-е сутки эксперимента в группах животных был следующим: $2,54 \pm 0,12$ у крыс получавших кларитромицин, $1,88 \pm 0,14$ – в группе крыс получавших цефтриаксон ($p=0,0026$) и $1,61 \pm 0,19$ в контроле ($p=0,0011$).

Вторым этапом работы для достижения поставленной цели было проведение комплексного обследования 65 пациентов с синдромом диабетической стопы от 55 до 71 года, находившихся на стационарном лечении в отделении гнойной хирургии ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» города Рязани в период с сентября 2015 года по декабрь 2017 года.

Основными принципами лечения синдрома диабетической стопы являлись: обработка гнойно-некротического очага, разгрузка пораженной нижней конечности, контроль инфекции и состояния углеводного обмена, обеспечение достаточного кровотока [37,64,159].

С момента поступления в стационар всем пациентам проводилась коррекция сахароснижающей терапии с достижением индивидуальных целевых значений гликемии. Методом случайной выборки все пациенты были распределены на две группы: группу сравнения, N=35 составили больные, получавшие стандартную антибактериальную терапию, рекомендованную ОАИ/МРГДС [53,97], основную группу, N=30 пациенты, которым дополнительно назначалась антибактериальная терапия препаратом кларитромицин (Клацид, Abbott France (Франция)) в суточной дозе 1000 мг внутривенно на протяжении 10 дней. Проводимое местное лечение в группах не различалось, адьювантные методы лечения в группах пациентов не использовались.

В ходе обследования было установлено, что все включенные в исследование пациенты были сопоставимы по полу, возрасту, характеру сопутствующей патологии, состоянию кровотока нижних конечностей,

выраженности диабетической полинейропатии, площади и глубине раневых дефектов, выраженности инфекционного процесса ($p>0,05$).

В ходе клинико-лабораторного исследования было выявлено, что средний уровень гликозилированного гемоглобина у пациентов обеих групп составлял $9,47\pm 1,94\%$, что говорило о неудовлетворительном контроле сахарного диабета. Притом показатели углеводного обмена в группах оказались неоднозначными. Так уровень гликированного гемоглобина в основной группе был статистически более высоким, чем у пациентов группы сравнения ($p=0,011$).

В исследовании Christman et al. было установлено, что скорость заживления ран нижних конечностей при диабете напрямую зависела от уровня гликированного гемоглобина. При значениях HbA1c $\leq 7\%$ скорость заживления составляла 0.197см^2 в день, при HbA1c 7-8% раневые дефекты уменьшались в размерах со скоростью 0.157 см^2 в день, а при HbA1c $\geq 8\%$ заживление происходило со скоростью 0.028 см^2 в день [100].

Однако, по данным исследования UKPDS, несмотря на зафиксированную связь между снижением гликированного гемоглобина и сокращением рисков развития микрососудистых осложнений, сердечно-сосудистых катастроф и смертности, ассоциации между риском проведения ампутации нижних конечностей и интенсивностью гликемического контроля выявлено не было [109]. Исследование DCCT также подтверждает отсутствие влияния гликемического контроля на частоту проведения высоких ампутаций нижних конечностей [61].

У большинства пациентов имелась дистальная полинейропатия, лишь у 4 человек при оценке периферической чувствительности не было отмечено ее снижение, но учитывая сухость кожи стоп, наличие гиперкератозов, позволило расценить это как начальные признаки диабетической полинейропатии.

Согласно лабораторным исследованиям крови, пациенты в группах были сопоставимы по значениям общего и биохимического анализов крови, за исключением скорости оседания эритроцитов. Обращает на себя внимание

достоверное ускорение СОЭ у пациентов основной группы ($p=0,002$), что может быть обусловлено длительно текущим раневым процессом.

Однако, по данным Adler et al., пол, возраст, расовая принадлежность, курение, ИМТ, липиды крови, артериальное давление (АД), температура тела, количество лейкоцитов в крови и диабетическая нейропатия не влияли на скорость заживления [61,190].

Для определения наличия инфекции, а также степени ее тяжести использовались классификационная система, разработанная Американским обществом инфекционистов (АОИ), и инфекционная часть классификации PEDIS. Пациенты, у которых отсутствовали системные или местные признаки инфекционного процесса, в исследование включены не были. У 24 (68,6%) пациентов группы сравнения и у 21 (70,0%) – основной группы имели среднюю степень инфекционного процесса. Группы по данному показателю статистически не различались ($p>0,05$).

Анализируя спектр выделенной микробной флоры из ран пациентов можно отметить преобладание грамположительной флоры в 1,5 раза. В 48,2% случаев микрофлора выделялась в монокультуре. По видовому составу выделенных микроорганизмов из ран больных группы статистически не различались ($p>0,05$).

Особого внимания заслуживает выделение полирезистентных штаммов микроорганизмов из ран больных, основными представителями которых оказались *Staphylococcus aureus*(MRSA), *Acinetobacterbaumanniicomplex*, *Klebsiellapneumonia* и *Pseudomonasaeruginosa*. Данные представители микрофлоры ран в группах пациентов встречались практически в равных долях: 24(32,9%) случая в группе контроля и в 22(35,5%) – основной группы ($p>0,05$).

Больные были сопоставимы по размерам и глубине ран, а также согласно классификации Wagner.

На фоне проводимого лечения были выявлены существенные различия в динамике площади и глубины ран по сравнению с исходными данными планиметрического исследования, как в группе сравнения, так и в основной. В

основной группе, где производилось дополнительно назначение антибактериального препарата кларитромицин, отмечено сокращение площади раневого дефекта на $5,2 \text{ см}^2$ [4,3; 6,7] ($p < 0,001$). В группе сравнения отмечено сокращение площади раневого дефекта на $4,5 \text{ см}^2$ [4,3; 5,1] ($p < 0,001$). Однако, несмотря на то, что статистически значимых различий между группами получено не было ($p > 0,05$), имелась четкая тенденция к более выраженному сокращению ран в основной группе.

Глубина раневых дефектов на фоне лечения сократилась в 1,9 раза в основной группе, в группе сравнения – в 1,2 раза, что также имело достоверное отличие от исходных показателей обеих групп ($p < 0,001$).

Однако, по данному параметру группы между собой не отличались ($p > 0,05$).

В ходе цитологического исследования мазков-отпечатков до лечения достоверных различий в группах отмечено не было. Клеточный состав был представлен в основном большим количеством нейтрофильных лейкоцитов и скоплением микроорганизмов в значительном количестве. Тип цитограмм у пациентов обеих групп соответствовал дегенеративно-воспалительному.

На фоне лечения цитологическая картина у пациентов группы сравнения имела значительные отличия от цитограмм основной группы. В цитограммах на 4-е сутки сохранялись детрит и внеклеточная микрофлора. К 7-м суткам доля нейтрофилов средней степени сохранности составила 75-80%, фагоцитоз носил незавершенный характер. Микрофлора находилась в начальной стадии переваривания. К 14-м суткам сохранялось высокое содержание в мазках нейтрофилов (75-80%). На долю молодых клеток соединительной ткани приходилось 10-15%. Фагоцитоз начинал носить завершенный характер.

Для отображения динамики воспалительного процесса в ране был также подсчитан клеточный индекс. На основании чего также было подтверждено более быстрое купирование воспалительного процесса в ранах пациентов основной группы ($p < 0,05$).

Для оценки эффективности проводимой антибактериальной терапии выполнена оценка динамики микробной обсемененности раневых дефектов. Так в основной группе уже на 4-е сутки уровень обсемененности снижался до 10^7 , а на 7-е сутки составлял 10^5 . На 14-е сутки у пациентов основной группы патогенные микроорганизмы из ран не высевались, при этом в группе сравнения бактериальная обсемененность раневого поля в этот период варьировала от 10^3 до 10^5 КОЕ.

Полное очищение раны с появлением здоровых мелкозернистых грануляций с очагами краевой эпителизации служило критерием окончания I фазы раневого процесса и переходом в репаративную фазу.

Таким образом, длительность I фазы раневого процесса в группах составила 23[21,6; 28,2] дня в среднем в группе сравнения, и 18,3[14,7;25,1] дня в среднем основной группы ($p=0,012$). Исходя из этого, в основной группе, к окончательному этапу хирургического лечения – пластической реконструкции стопы удавалось прибегнуть, в среднем на 4,7[3,1;6,9] суток раньше ($p=0,012$).

Как заключительный этап проводимой работы, был произведен анализ ближайших результатов пластического закрытия раневых дефектов. При анализе ближайших результатов пластики ран местными тканями в группах пациентов достоверных различий выявлено не было ($p>0,05$). При выполнении дерматомной аутодермопластики в контрольной группе зарегистрирован 1(8,3%) случай полного отторжения кожного лоскута и у 3(25%) пациентов отмечался лизис части трансплантата ($p=0,001$).

Осложнений приживления кожного трансплантата в основной группе отмечено не было.

При анализе койко-дня проведенных на стационарном лечении отмечено его сокращение у пациентов основной группы, что составило: у больных с нейропатической формой СДС на 4,2дня [3,4;7,9] меньше, при нейроишемической форме СДС меньше на 5.1 дня[2,3;6,8].

Таким образом, применение комплексной антибактериальной терапии с включением препарата группы макролидов позволило добиться значительного

улучшения клинических результатов лечения пациентов с синдромом диабетической стопы основной группы и сократить их длительность пребывания на стационарном лечении.

ВЫВОДЫ

1. Скорость заживления раневых дефектов у крыс с моделью инфицированной полнослойной кожной раны на фоне экспериментального диабета после применения кларитромицина превышала таковую животных контрольной группы в 3,5 раза ($p < 0,05$) и не отличалась от группы животных, получавших инъекции цефалоспоринов III поколения ($p > 0,05$).

2. Терапия кларитромицином у крыс с моделью инфицированной полнослойной кожной раны на фоне аллоксанового диабета по сравнению с группой контроля и группой животных, получавших цефалоспорины III поколения, увеличила число активно фагоцитирующих клеток в 1,8 и 1,2 раза соответственно, а также привело к росту их поглотительной способности в 2,0 и 1,7 раза соответственно ($p < 0,05$).

3. На фоне комбинированной антибактериальной терапии с группой макролидов отмечено отсутствие роста микроорганизмов на питательной среде на 14-е сутки лечения, при этом в группе сравнения бактериальная обсемененность раневого поля в этот период варьировала от 10^3 до 10^5 КОЕ ($p < 0,05$).

4. В мазках-отпечатках раневых дефектов пациентов с синдромом диабетической стопы при системной терапии макролидом отмечено увеличение клеточного индекса, как объективного показателя воспалительного процесса в ране, по сравнению с группой сравнения в 2,4 раза ($p < 0,05$).

5. У пациентов с синдромом диабетической стопы на фоне комбинированной антибактериальной терапии с группой макролидов отмечено полное очищение раны с появлением мелкозернистых грануляций в среднем на 4,7 [3,1;6,9] суток раньше относительно группы сравнения ($p < 0,05$), что позволило прибегнуть к окончательному этапу хирургического лечения – пластической реконструкции стопы в более короткие сроки.

6. Осложнений приживления кожного трансплантата при дерматомной аутодермопластике у пациентов с синдромом диабетической стопы с комплексной антибактериальной терапией, включающей кларитромицин, не

отмечено. В контрольной группе в 8,3% случаев наблюдалось полное отторжение кожного лоскута и в 25% - лизис части трансплантата.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В комплексную антибактериальную терапию больных с диабетической стопой необходимо включать препараты группы макролидов, в частности кларитромицин в дозе 500 мг в/в капельно *2 раза в сутки.

2. Комплексную антибактериальную терапию с включением группы макролидов у пациентов с инфекцией диабетической стопы целесообразно назначать на стадии эмпирической терапии, длительностью 10 суток.

3. В процессе лечения пациентов с инфекцией диабетической стопы необходимо оценивать изменение цитологического пейзажа для обоснования сроков кожной пластики для закрытия раневых дефектов.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АД – артериальное давление

АМП – антимикробные препараты

АОИ - Американское общество инфекционистов

АСБ – атеросклеротическая бляшка

ГБ - гипертоническая болезнь

ГОП – грамотрицательные палочки

ГПК – грамположительные кокки

ИБС - ишемическая болезнь сердца

ИДС – инфекция диабетической стопы

ИМТ–индекс массы тела

ИП – индекс переваривания бактериального агента

КМ - коэффициент мобилизации

КОЕ – колониеобразующие единицы

ЛПВП - липопротеиды высокой плотности

ЛПНП - липопротеиды низкой плотности

МКБ - мочекаменная болезнь

МПК – минимально подавляющая концентрация

МПК₉₀- минимальная подавляющая концентрация антибиотика для 90% исследованных штаммов.

МРГДС – Международная рабочая группа по диабетической стопе

Муб – среднее число убитых микробов

НГ – нейтрофильный гранулоцит

НДСм - модифицированная шкала нейропатического дисфункционального счета

ОМЛР – организм с множественной лекарственной устойчивостью

ОНМК - острое нарушение мозгового кровообращения

ПИКС - постинфарктный кардиосклероз

ПЯЛ – полиморфно ядерный лейкоцит

СД – сахарный диабет

СДС – синдром диабетической стопы

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ССВР–синдром системной воспалительной реакции

ФАН–активно-фагоцитирующая клетка

ФИ – фагоцитарный индекс

ФХ – фторхинолон с высокой активностью против аэробных грамположительных кокков

ФЧ –фагоцитарное число

ХВН–хроническая венозная недостаточность

ХОБЛ–хроническая обструктивная болезнь легких

Цеф – цефалоспорин

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

ЯБЖ–язвенная болезнь желудка

%П – процент переваривания бактериального агента

ESBL – микроорганизм, продуцирующий бета-лактамазу расширенного спектра

Cipro – противосинегнойный фторхинолон

HbA1c – гликированный гемоглобин

IL – интерлейкин

MRSA – метициллинрезистентный золотистый стафилококк

S-Spen – полусинтетический пенициллиназоустойчивый пенициллин

T/S – триметоприм/сульфаметоксазол

T/S (±rif)– триметоприм/сульфаметоксазол независимо от сочетания с рифампицином

TNF α – фактор некроза опухоли α

VAC – vacuum-assisted closure, вакуум-ассистированная повязка

Vmax–линейная скорость кровотока

β -L-ase – ингибитор β -лактама, β -лактамазы

β -L-ase-1 – амоксициллин/клавуанат, ампициллин/сульбактам

β -L-ase-2 – тикарциллин/клавуанат, пиперациллин/тазобактам

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом 6-й выпуск [Текст]/ под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М.: ФГБУ Эндокринологический научный центр, 2013.
2. Аметов, А.С. Сахарный диабет 2 типа [Текст]. Проблемы и решения / А.С.Аметов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, - 2013. – С.621-646.
3. Анциферов, М.Б. Синдром диабетической стопы;современные направления в лечении и профилактике [Текст]/ М. Б. Анциферов, Е. Ю. Комелягина // Рус. мед. журн. - 2005. - Т.13, №6.- С.367-370.
4. Артыкова, Д.М. Интегрированная оценка факторов риска развития синдрома диабетической стопы [Текст]/ Д.М. Артыкова, Н.Ф. Ишанкулова // Наука молодых – Eruditio Juvenium. - 2017. - Т.5, №1. - С. 22-27.
5. Архипов, В.В. Диагностика и лечение пневмоний с позиций медицины доказательств [Текст] / В.В.Архипов, А.Н. Цой, А.Г. Чучалин // Consilium medicum.- 2002. - Т. 4, № 12.- С. 620–645.
6. Аутодермопластика как метод закрытия кожного дефекта у больных с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы[Текст]/ В.В. Масевнин [и др.] // Последипломное образование работников здравоохранения и современные проблемы медицины: сб. науч. тр. / редкол.: С.С. Петров, Л.П. Гребова, О.Е. Коновалов; РязГМУ. - Рязань, 2007. - С. 134-137.
7. Афиногенова, А.Г. Микробные биопленки ран: состояние вопроса [Текст]/ А.Г. Афиногенова, Е.Н. Даровская // Травматология и ортопедия России.- 2011.- №3(61).- С.119–25.
8. Белобородова, Н.В. Роль микробных сообществ или биопленок в кардиохирургии [Текст]/ Н.В. Белобородова, И.Т. Байрамов // Антибиотики и химиотерапия.- 2008. - Т. 53, №11–12.- С.44–59.
9. Войнов, А.В. Синдром "диабетической стопы" [Текст]/ А.В. Войнов, А.Я. Бедров, В.А. Воинов // Вестн. хирургии им. Грекова. - 2012. - Т.171, №3. - С. 106-109.

10. Гостев, В.В. Бактериальные биопленки и инфекции [Текст]/ В.В. Гостев, С.В. Сидоренко // Журнал инфектологии.- 2010.-Т. 2, № 3.- С. 4–15.

11. Грекова, Н.М. Оперативные вмешательства при синдроме диабетической стопы: современная классификация и новые технологии [Текст]/ Н.М. Грекова, Н.Б. Шишменцев, Ю.В. Лебедева // Вестн. хирургии им. Грекова. - 2016. - Т.175, №5. - С. 106-109.

12. Гурьева, И.В. Факторы риска и профилактика синдрома диабетической стопы[Текст]/ И.В. Гурьева // Международный эндокринологический журнал. - 2008. - №6. – С.10.

13. Дворецкий, Л.И. Азитромицин в лечении инфекций нижних дыхательных путей: позиции сохраняются [Текст] / Л.И. Дворецкий // РМЖ.- 2004.- Т. 12, № 2.- С. 83–87.

14. Заболевание артерий нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом: состояние проблемы и перспективы лечения [Текст]/ Г.Р. Галстян [и др.] // Сахарный диабет.- 2011.- №1.- С. 74-5.

15. Зеленина, Т.А. Применение препарата полиоксидония в комплексном лечении синдрома диабетической стопы [Текст]/ Т.А. Зеленина, А.Б. Земляной, Т.В. Глазанова // Хирургия. - 2014. - №10. - С. 113-117.

16. Зубков, М.Н. Внебольничные пневмонии: роль макролидов возрастает [Текст]/ М.Н. Зубков // Русский медицинский журнал.- 2006.- №14(21).- С.1545–51.

17. Игнатович, И.Н. Обоснование оптимального метода лечения пациентов с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы на основании сравнения отдаленных результатов применения различных методов [Текст]/ И.Н. Игнатович, Г.Г. Кондратенко, Д.Д. Никулин // Новости хирургии. - 2013. - Т.21, №2. - С. 69-75.

18. Изучение влияния различных методов местного лечения на заживление ран у пациентов с нейропатической и нейроишемической формой синдрома диабетической стопы[Текст]/ Е.Л. Зайцева [и др.] // Вестн. Рос. АМН. - 2016. - Т.71, №6. - С. 466-471.

19. Капутин, М.Ю. Транслюминальная баллонная ангиопластика в лечении критической ишемии нижних конечностей [Текст]: автореф. дис. д-ра мед. наук / М.Ю. Капутин. – СПб., 2008. – 35 с.

20. Карпов, О.И. Комплаенс антибиотикотерапии инфекции дыхательных путей [Текст]/ О.И. Карпов // Антибиотики и химиотерапия.- 1999.- № 8.- С. 37–45.

21. Карпов, О.И. Макролиды: новая парадигма: фармакодинамика/иммуномодуляция [Текст] / О.И. Карпов // Клинич. фармакология и терапия.- 2005.- Т. 14, № 5.- С. 20–3.

22. Комелягина, Е.Ю. Алгоритм выявления пациентов из группы риска развития синдрома диабетической стопы [Текст]: дис. канд. мед. наук / Е.Ю. Комелягина.- М., 1998.

23. Комелягина, Е.Ю. Антибактериальная терапия при синдроме диабетической стопы: методические рекомендации [Текст]/ Е.Ю. Комелягина, В.А. Митиш, М.Б. Анциферова. – М., 2006. – 143 с.

24. Корейба, К.А. Антибактериальная терапия хирургических поражений кожи мягких тканей. Классификация, диагностика и лечение хирургических инфекционных поражений кожи и мягких тканей [Текст]/ К.А. Корейба.- М.: LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, 2012. – С. 39–42.

25. Мальцев, С.В. Что такое биопленки? [Текст]/ С.В. Мальцев, Г.Ш. Мансурова // Практ. медицина.- 2011.- №5(53).- С. 7–10.

26. Международное соглашение по диабетической стопе [Текст] / Международная рабочая группа по диабетической стопе. – М.: Берег, 2000. – 96

27. Морфологическая оценка эффективности применения гидрохирургической системы VersaJet в сочетании с комбинированной антибактериальной терапией при лечении гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы с биопленочными формами бактерий [Текст]/ И.А. Чекмарева [и др.] // Раны и раневые инфекции.- 2015.- Т. 2, № 3.- С. 8-20.

28. Особенности репараций тканей у пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы на фоне терапии отрицательным давлением[Текст]/ Е. Л. Зайцева [и др.] // Вестн. хирургии им. Грекова. - 2014. - Т.173, №5. - С. 64-72.

29. Оценка динамики площади раны и частоты случаев полной эпителизации при лечении синдрома диабетической стопы (результаты многоцентрового исследования)[Текст]/ В.А. Ступин [и др.] // Хирургия. - 2017. - №3. - С. 55-60.

30. Павлов, Ю.И. Организация медицинской помощи, амбулаторного и стационарного лечения больных с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы [Текст]/ Ю.И. Павлов // Хирургия. - 2012. - №2. - С. 55-59.

31. Пальцин, А.А. возбудители хирургической инфекции при поражениях нижних конечностей у больных сахарным диабетом [Текст]/ А.А. Пальцин, Е.Г. Колокольчикова, А.Б. Земляной // Анналы хирургии.- 2001.- № 5.- С. 50-6.

32. Патологические аспекты процесса заживления ран в норме и при синдроме диабетической стопы[Текст]/ Н. В. Максимова [и др.] // Вестн. Рос. АМН. - 2014. - №11-12. - С. 110-117.

33. Подавление бактериальных биопленок при гнойно-некротических осложнениях синдрома диабетической стопы методом ультразвуковой кавитации[Текст]/ Б.В. Рисман [и др.] // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2011. - №4. - С. 14-19.

34. Реализация мультидисциплинарного подхода к лечению синдрома диабетической стопы: роль ангиохирурга[Текст]/ О.А. Шумков [и др.] // Хирургия. - 2013. - №11. - С. 9-15.

35. Резистентность возбудителей раневой инфекции при синдроме диабетической стопы к антибиотикам [Текст]/ О.В. Удовиченко [и др.] // Сахарный диабет. – 2007. - №3. – С.4-8.

36. Резистентные и полирезистентные возбудители гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы[Текст]/ С. Д. Шаповал [и др.] // Новости хирургии. - 2015. - Т.23, №1. - С. 70-76.

37. Роль поражения венозной системы в патогенезе синдрома диабетической стопы[Текст]/ Г. А. Смирнов [и др.] // Новости хирургии. - 2014. - Т.22, №6. - С. 693-700.

38. Рундо А.И. Современные аспекты этиологии и патогенеза синдрома диабетической стопы [Текст]/ А. И. Рундо // Новости хирургии. - 2015. - Т.23, №1. - С. 97-104.

39. Синдром диабетической стопы: принципы комплексного лечения[Текст]/ О.В. Галимов [и др.] // Вестн. хирургии им. Грекова. - 2015. - Т.174, №5. - С. 61-65.

40. Современные фторхинолоны в лечении больных с инфекционными поражениями при синдроме диабетической стопы[Текст]/ В. А. Ступин [и др.] // Хирургия. - 2014. - №10. - С. 102-108.

41. Сравнительная оценка интенсивности репаративных процессов в мягких тканях нижних конечностей у пациентов с сахарным диабетом на фоне применения локального отрицательного давления и стандартной терапии[Текст]/ Г. Р. Галстян [и др.] // Терапевт. арх. - 2016. - Т.88, №10. - С. 19-24.

42. Страчунский, Л.С. Макролиды в современной клинической практике [Текст]/ Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов.- Смоленск: Русич, 1998.- 304 с.

43. Суковатых, Б.С. Оптимизация лечения гнойных ран у больных с синдромом диабетической стопы [Текст]/ Б.С. Суковатых, Т.А. Панкрушева, С.А. Абрамова // Вестн. хирургии им. Грекова. - 2014. - Т.173, №3. - С. 28-32.

44. Токмакова, А.Ю. Использование индивидуальных разгрузочных повязок в комплексной терапии синдрома диабетической стопы [Текст]/ А.Ю. Токмакова, Г.Р. Галстян, М.Б. Анциферов // Анналы хирургии. - 2000. - №5.-С.55-59.

45. Токмакова, А.Ю. Современная концепция ведения больных с хроническими ранами и сахарным диабетом[Текст]/ А.Ю.Токмакова, Г.Ю.Страхова, Г.Р. Галстян // Сахарный диабет. – 2005. - №1. –С.42-48.

46. Удовиченко, О.В. Проблемы надежности данных о результатах лечения синдрома диабетической стопы [Текст]/ О.В. Удовиченко, Е.А. Берсенева, Д.О.

Мешков // Пробл. социал. гигиены, здравоохранения и истории медицины. - 2016. - Т.24, №5. - С. 284-287.

47. Удовиченко, О.В. Разработка критериев, показателей и индикаторов качества медицинской помощи для больных с синдромом диабетической стопы в амбулаторной практике [Текст]/ О.В. Удовиченко, Е.А. Берсенева, Д.О. Мешков // Здравоохранение Рос. Федерации. - 2016. - Т.60, №3. - С. 138-142.

48. Фармакотерапия, местные и дополнительные методы лечения при синдроме диабетической стопы [Текст]/ В.Н. Оболенский [и др.] // Фарматека. - 2012. - №10.- С. 35-41.

49. Характеристика микроциркуляции нижних конечностей у пациентов с осложненным синдромом диабетической стопы[Текст]/ С.Д. Шаповал [и др.] // Новости хирургии. - 2013. - Т.21, №3. - С. 54-59.

50. Хирургическое лечение синдрома диабетической стопы, осложненного гнойно-некротическими процессами[Текст]/ Ю.Г. Шапкин [и др.] // Новости хирургии. - 2012. - Т.20, №6. - С. 116-120.

51. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии[Текст]/ В.Г.Баранов [и др.].- Л.: Наука, 1983.- 240 с.

52. A retrospective analysis of the impact of azithromycin maintenance therapy on adults attending a UK cystic fibrosis clinic [Text]/ J. Fleet [et al.] // J Cyst Fibros. – 2013. – Vol. 12. – P. 49-53.

53. A systematic review of interventions in the management of infection in the diabetic foot [Text] / E.J. Peters [et al.] // Diabetes/Metabolism Research and Reviews.- 2016.- Vol.3.- P. 145-153.

54. A systematic review of the effectiveness of interventions in the management of infection in the diabetic foot [Text]/ E.J. Peters [et al.] // Diabetes Metab Res Rev. – 2012. – Vol.28 (Suppl. 1). – P. 142-162.

55. Absorption of ciprofloxacin in patients with diabetic gastroparesis [Text]/ M.N. Marangos [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 1995. – Vol. 39. – P. 2161-2163.

56. Amsden, G. Anti-inflammatory effects of macrolides — an underappreciated benefit in the treatment of community-acquired respiratory tract infections and chronic

inflammatory pulmonary conditions? [Text] / G. Amsden // J. Antimicrob. Chemother. – 2005. – Vol. 55, № 1. – P. 10–21.

57. Antibiotic therapy for diabetic foot infections: comparison of two parenteral-to-oral regimens [Text] / B.A. Lipsky [et al.] // Clin Infect Dis. – 1997. – Vol. 24. – P. 643-648.

58. Anti-inflammatory and immunomodulating effects of clarithromycin in patients with cystic fibrosis lung disease [Text] / A.L. Pukhalsky [et al.] // Med. Inflamm. – 2004. – Vol. 13. – P. 111–117.

59. Armstrong, D.G. The University of Texas diabetic foot classification system [Text] / D.G. Armstrong // Ostomy wound manage. – 1996. – Vol. 42. – P. 60-61.

60. Assessing bias in studies of prognostic factors [Text] / J.A. Hayden [et al.] // Ann Intern Med. – 2013. – Vol. 158, № 4. – P. 280-286.

61. Association between glycated haemoglobin and the risk of lower extremity amputation in patients with diabetes mellitus - review and meta-analysis [Text] / A. Adler [et al.] // Diabetologia. – 2010. – Vol. 53. – P. 840–849.

62. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications [Text] / M.J. Parnham [et al.] // Pharmacol Ther. – 2014. – Vol. 143, № 2. – P. 225–245.

63. Bacterial biofilms in nature and disease [Text] / J.W. Costerton [et al.] // Annu Rev Microbiol. – 1987. – Vol. 41. – P. 435–64.

64. Baltzis, D. Pathogenesis and Treatment of Impaired Wound Healing in Diabetes Mellitus: New Insights [Text] / D. Baltzis, I. Eleftheriadou, A. Veves // Adv Ther. – 2014. – Vol. 31. – P. 817–836.

65. Bauernfeind, A. In vitro activity of dirithromycin in comparison with other new and established macrolides [Text] / A. Bauernfeind // J. Antimicrob. Chemother. – 1993. – Vol. 31(Suppl.C). – P. 39-49.

66. Bergogne-Berezin, E. Clinical significance of studies on antibiotic concentrations in the lower respiratory tract [Text] / E. Bergogne-Berezin // Predicting

Antibiotic Response in Respiratory Tract Infections: Highlights from the 7th International Congress for Infectious Diseases. – Hong Kong, 1996. – P. 7-8.

67. Berlanga-Acosta, J. Diabetic lower extremity wounds: the rationale for growth factors-based infiltration treatment [Text] / J. Berlanga-Acosta // Int Wound J. – 2011. – Vol. 8. – P. 612-620.

68. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics [Text] / M. Olson [et al.] // Can J Vet Res. – 2002. – Vol. 66, № 2. – P. 86–92.

69. Biofilms in chronic wounds [Text] / G.A. James [et al.] // Wound Repair Regen. – 2008. – Vol. 16, № 1. – P. 37–44.

70. [Biological effects of amniotic membrane on diabetic foot wounds: a systematic review \[Text\] / A.O. Paggiaro \[et al.\] // J Wound Care.](#) – 2018. – Vol. 27(Suppl. 2). – P. S19-S25. doi: 10.12968/jowc.2018.27.Sup2.S19.

71. Boyko, E.J. [Limb- and Person-Level Risk Factors for Lower-Limb Amputation in the Prospective Seattle Diabetic Foot Study \[Text\] / E.J. Boyko, A.D. Seelig, J.H. Ahroni // Diabetes Care.](#) – 2018. – Feb 8. pii: dc172210. doi: 10.2337/dc17-2210. [Epub ahead of print]

72. Bryskier, A. New insights into the structure-activity relationship of macrolides and azalides [Text] / A. Bryskier, C. Agouridas, J.F. Chantot // New Macrolides, Azalides, and Streptogramins in Clinical Practice / eds.: H.C. Neu [et al.]. – New York, etc., 1995. – P. 3-30.

73. Chemistry and mode of action of macrolides [Text] / T. Mazzei [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 1993. – Vol. 31 (Suppl. C). – P. 1-9.

74. Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Diabetic Foot Infections [Text] / B.A. Lipsky [et al.]; Infectious Diseases Society of America // Clin Infect Dis. – 2012. – Vol. 54. – P. e132-e173.

75. Comparative in vitro activities of new 14-, 15- and 16-membered macrolides [Text] / D.J. Hardy [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 1988. – Vol. 32. – P. 1710-1719.

76. Contribution of infection and peripheral artery disease to severity of diabetic foot ulcers in Chinese patients [Text]/ D. Hao [et al.] // Int J Clin Pract. – 2014. – Vol. 68. – P. 1161-1164.

77. Correlation of adherence to the 2012 Infectious Diseases Society of America practice guidelines with patient outcomes in the treatment of diabetic foot infections in an outpatient parenteral antimicrobial programme [Text]/ L.M. Pence [et al.] // Diabet Med. – 2014. – Vol. 31. – P. 1114-1120.

78. Cost-effectiveness of ampicillin/sulbactam versus imipenem/cilastatin in the treatment of limb-threatening foot infections in diabetic patients [Text]/ P.S. McKinnon [et al.] // Clin Infect Dis. – 1997. – Vol. 24. – P. 57-63.

79. Costs of deep foot infections in patients with diabetes mellitus [Text]/ Tennvall G. Ragnarson [et al.] // Pharmacoeconomics. – 2000. – Vol. 18. – P. 225-238.

80. Craig W.A. Postantibiotic effect [Text]/ W.A. Craig, S. Gudmundson // Antibiotics in Laboratory Medicine / ed.: V. Lorian. – Baltimore etc., 1996. – P. 403-431.

81. Cunha, B.A. Antibiotic selection for diabetic foot infections: a review [Text] / B.A. Cunha // J. Foot Ankle Surg. – 2003. – Vol. 39, №4. – P. 253 – 257.

82. Cutaneously applied erythromycin base reduces various types of inflammatory reaction in mouse ear [Text]/ J.P. Tarayre [et al.] // Int. J. Tissue React. – 1987. – Vol. 9. – P. 77-85.

83. *Decreased fluidity of polymorphonuclear leukocyte membrane in streptozocin-induced diabetic rats* [Text]/ M. Masuda [et al.] // Diabetes. – 1990. – Vol. 39. – P. 466-70.

84. del Pozo, J.L. The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections [Text] / J.L. del Pozo, R. Patel // Clin Pharmacol Ther. – 2007. – Vol. 82, № 2. – P. 204–9.

85. [Diabetic foot limb salvage - a series of 809 attempts and predictors for endovascular limb salvage failure](#) [Text] / Joseph Z. Lo [et al.] // Ann Vasc Surg. – 2018. – Feb 8. pii: S0890-5096(17)30087-0. doi: 10.1016/j.avsg.2018.01.061. [Epub ahead of print]

86. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections [Text]/ B.A. Lipsky [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2004. – Vol. 39. – P. 885-910.

87. Direct evidence for antipseudomonal activity of macrolides; exposure-dependent bactericidal activity and inhibition of protein synthesis by erythromycin, clarithromycin, and azithromycin [Text]/ K. Tateda [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1996. – Vol. 40. – P. 2271-2275.

88. Donlan R.M. Biofilm elimination on intravascular catheters: important considerations for the infectious disease practitioner [Text]/ R.M. Donlan // *Clin Infect Dis.* – 2011. – Vol. 52, № 8. – P. 1038–45.

89. Effect of osteopontin in regulating bone marrow mesenchymal stem cell treatment of skin wounds in diabetic mice [Text] / Hao Meng [et al.] // *Diabetes Metab Res Rev.* – 2014. – Vol. 30. – P.457–466.

90. Efficacy of erythromycin lactobionate for treating *Pseudomonas aeruginosa* bacteriemia in mice [Text]/ Y. Hirakata [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1992. – Vol. 36. – P. 1198-1203.

91. Efficacy of femoral intra-arterial administration of teicoplanin in gram-positive diabetic foot infections [Text]/ B. Dorigo [et al.] // *Angiology.* – 1995. – Vol. 46. – P.1115-1122.

92. Ertapenem versus piperacillin/tazobactam for diabetic foot infections (SIDESTEP): prospective, randomised, controlled, double-blinded, multicentre trial [Text]/ B.A. Lipsky [et al.] // *Lancet.* – 2005. – Vol. 366. – P. 1695-1703.

93. Erythromycin reduces the severity of bronchial hyperresponsiveness in asthma [Text]/ H. Miyatake [et al.] // *Chest.* – 1991. – Vol. 99. – P. 670-673.

94. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes [Text]/ Council of Europe. – Strasbourg: Council of Europe; London: HMSO,1986.

95. Evolution and diversification of *Pseudomonas aeruginosa* in the paranasal sinuses of cystic fibrosis children have implications for chronic lung infection [Text]/ S.K. Hansen [et al.] // *ISME J.* – 2012. – Vol. 6, № 1. – P. 31- 45.

96. EWMA document: Antimicrobials and non-healing wounds. Evidence, controversies and suggestions [Text]/ F. Gottrup [et al.] // J Wound Care. – 2013. – Vol. 22. – P. S1-89.

97. Expert opinion on the management of infections in the diabetic foot [Text]/ B.A. Lipsky [et al.] // Diabetes Metab Res Rev 2012. – Vol. 28 (Suppl 1). – P. 163-178.

98. Goodson, W.H. Wound healing in experimental diabetes mellitus: importance of early insulin therapy [Text]/ W.H. Goodson, T.K. Hunt // Surg. Forum. – 1978.- Vol. 29.- P.95–99.

99. Gotfried, M. Macrolides for the treatment of chronic sinusitis, asthma, and COPD[Text] / M. Gotfried //Chest. – 2004. – Vol. 125. – P. 52-61.

100. Hemoglobin A1c Predicts Healing Rate in Diabetic Wounds[Text] / A.Christman [et al.] //Journal of Investigative Dermatology. –2011. – Vol. 131. – P.2121–2127.

101. Hori, S. Macrolides increase endogenous glucocorticoid levels [Text]/ S. Hori, J. Sato, M. Kawamura // The 36th Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – New Orleans, 1996. – Abstr. A83.

102. Hypoglycemia after antimicrobial drug prescription for older patients using sulfonylureas [Text]/ T.M. Parekh [et al.] // JAMA Intern Med. – 2014. – Vol. 174. – P.1605-1612.

103. IDF Diabetes Atlas [Text]/ International Diabetes Federation. – 6th ed. – 2013.

104. Immunologic manifestation and therapeutic possibilities of macrolides in diffuse panbronchiolitis [Text]/ O. Kobayashi [et al.] // The 3rd International Conference on the Macrolides, Azalides and Streptogramins. – Lisbon, 1996. – Abstr. 9.07.

105. Immunomodulatory effects of roxithromycin in mice [Text]/ E. Kita [et al.] // The 17th International Congress of Chemotherapy. – Berlin, 1991.- Abstr. 765.

106. Implementation of diabetic foot ulcer classification system for research purposes to predict lower extremity amputation [Text]/ A.H. Widatalla [et al.] // Int J Diabetes Dev Ctries. – 2009. – Vol. 29. – P. 1-5.

107. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in non pregnant adults, 1990-2007 [Text]/ T.H. Skoff [et al.] // Clin Infect Dis. – 2009. – Vol. 49, № 1. – P. 85-92.

108. [Influence of multidrug resistant organism on the outcome of diabetic foot infection \[Text\]](#) / N. Saltoglu [et al.]; Turkish Clinic Microbiology and Infectious Diseases Society, Diabetic Foot Infections Study Group // Int J Infect Dis.– 2018. – Feb 21. pii: S1201-9712(18)30049-3. doi: 10.1016/j.ijid.2018.02.013. [Epub ahead of print]

109. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33)[Text] / UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group // Lancet. – 1998. – Vol. 352. – P.837–853.

110. International consensus on the diabetic foot[Text] / International Working Group on the Diabetic Foot. – The Netherlands, 1999. – P.20–96.

111. International consensus on the diabetic foot [Text]/ International Working Group on the Diabetic Foot. – Brussels: International Diabetes Foundation, 2003.

112. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II) [Text]/ L. Norgren [et al.] // European Journal of Vascular and Endovascular Surgery. – 2007. – Vol.33 (Suppl. 1). – P. 1 –75.

113. IWGDF Guidance on Diagnosis and Management of Foot infections in Persons with Diabetes [Text]/ B.A. Lipsky [et al.] // Diabetes Metab Res Rev. – 2016. – Vol. 32 (Suppl. 1). – P. 45-74.

114. IWGDF Guidance on Footwear and offloading interventions to prevent and heal foot ulcers in patient with diabetes [Text]/ S.A. Bus [et al.] // Diabetes Metab Res Rev. – 2016. – Vol. 32 (Suppl. 1). – P. 99-118.

115. IWGDF Guidance on the diabetic foot 2015[Text] /International Working Group on the Diabetic Foot. –Netherlands, 2015.

116. IWGDF Guidance on the prevention of foot ulcers in at-risk patient with diabetes [Text]/ S.A. Bus [et al.] // Diabetes Metab Res Rev. – 2016. – Vol. 32 (Suppl. 1). – P. 16-24.

117. Kucers' The Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal and Antiviral Drugs [Text]/ L.M. Grayson [et al.]. – 6th ed. – Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2010.

118. Labro, M.T. Intracellular bioactivity of macrolides [Text]/ M.T. Labro // Clin. Microbiol. Infect. – 1996. – Vol. 1 (Suppl. 1). – P. S24-30.

119. Labro, M.T. L-cladinose is involved in the antioxidant and degranulating effect of erythromycin A-derived macrolides [Text]/ M.T. Labro, H. Abdelghaffar, A. Bryskier // The 36th International Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – New Orleans, 1996. – Abstr. G22.

120. Labro, M.T. Modulation of human polymorphonuclear neutrophil function by macrolides: preliminary data concerning dirithromycin [Text]/ M.T. Labro, J. El Benna, H. Abdelghaffar // J. Antimicrob. Chemother. – 1993. – Vol. 31 (Suppl. C). – P. 51-64.

121. Labro, M.T. Pharmacology of spiramycin [Text]/ M.T. Labro // Drug Invest. – 1993. – Vol. 6 (Suppl. 1). – P. 15-28.

122. Laopaiboon, M. Azithromycin for acute lower respiratory tract infections (Review) [Text] / M.Laopaiboon, R. Panpanich, K. Swa Mya; The Cochrane Collaboration.- Published by John Wiley & Sons, Ltd, 2015.

123. Leclerq, R. Resistance to macrolides, azalides, and streptogramins [Text]/ R. Leclerq, P. Courvalin // New Macrolides, Azalides, and Streptogramins in Clinical Practice / eds.: H.C. Neu [et al.]. – New York etc., 1995. – P. 31-40.

124. Leibovich, S. The role of the macrophage in wound repair [Text]/ S. Leibovich, R. Ross // Am. J. Pathol. – 1975. – Vol. 78. – P. 71–83.

125. Lenzen, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes [Text]/ S. Lenzen // Diabetologia. – 2008. – Vol. 51. – P. 216 – 226.

126. Lipsky, B.A. Evidence-based antibiotic therapy of diabetic foot infections [Text]/ B.A. Lipsky // FEMS Immunol Med Microbiol. – 1999. – Vol. 26. – P. 267-276.

127. Lipsky, B.A. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds [Text]/ B.A. Lipsky, C. Hoey // Clin Infect Dis. – 2009. – Vol. 49. – P. 1541-1549. 25

128. Lipsky, B.A. Topical versus systemic antimicrobial therapy for treating mildly infected diabetic foot ulcers: a randomized, controlled, double-blinded, multicenter trial

of pexiganan cream [Text]/ B.A. Lipsky, K.J. Holroyd, M. Zasloff // Clin Infect Dis. – 2008. – Vol. 47. – P. 1537-1545.

129. Lipsky, B.A. Treating foot infections in diabetic patients: a randomized, multicenter, open-label trial of linezolid versus ampicillin-sulbactam/amoxicillin-clavulanate [Text]/ B.A. Lipsky, K. Itani, C. Norden // Clin Infect Dis. – 2004. – Vol. 38. – P. 17-24.

130. [Local Antibiotic Delivery Systems: Current and Future Applications for Diabetic Foot Infections \[Text\]](#) / K. Markakis [et al.] // Int J Low Extrem Wounds. – 2018. – Feb 1: 1534734618757532. doi: 10.1177/1534734618757532. [Epub ahead of print]

131. Long term azithromycin in children with cystic fibrosis: a randomized, placebo-controlled crossover trial [Text]/ A. Equi [et al.] // Lancet. – 2002. – Vol. 360. – P. 978–984.

132. Low dose erythromycin is highly efficacious in patients with active bronchiectasis [Text]/ K.W.T. Tsang [et al.] // European Respiratory Society. Annual Congress. – Berlin, 1997. – Abstr. 740.

133. Mackintosh C.L. Outpatient parenteral antibiotic therapy (OPAT) for bone and joint infections: experience from a UK teaching hospital-based service [Text]/ C.L. Mackintosh, H.A. White, R.A. Seaton // J Antimicrob Chemother. – 2011. – Vol. 66. – P. 408-415.

134. Maintenance of wound bacterial balance [Text]/ M.C. Robson [et al.] // Am J Surg. – 1999. – Vol. 178. – P. 399-402.

135. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates [Text]/ E. Bester [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2010. – Vol. 76, № 4. – P. 1189–97.

136. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an increasing problem in a diabetic foot clinic [Text]/ N. Tentolouris [et al.] // Diabet Med. – 1999. – Vol. 16. – P. 767-771.

137. Modification of phagocytosis and cytokine production in peritoneal and splenic murine cells by azithromycin and josamycin [Text]/ E. Ortega [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 2004. – Vol. 53. – P. 367–370.

138. Negative pressure wound therapy with saline instillation: 131 patient case series [Text]/ D. Brinkert [et al.] // *Int Wound J.* – 2013. – Vol. 10 (Suppl. 1). – P. 56-60.

139. Negative-pressure wound therapy with instillation: international consensus guidelines [Text]/ P.J. Kim [et al.] // *Plast Reconstr Surg.* – 2013. – Vol. 132. – P. 1569-1579.

140. *Nelson Textbook of Pediatrics* [Text]/ Robert M. Kliegman [et al.]. – 18th ed. – Saunders, 2007.

141. Neu, H.C. Bacterial resistance to other agents [Text]/ H.C. Neu // *Antibiotics in Laboratory Medicine* / ed.: V. Lorian. – 3rd ed. – Baltimore etc., 1991. – P. 714-722.

142. New evidence of antipseudomonal activity of macrolides [Text]/ K. Tateda [et al.] // *The 36th Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – New Orleans, 1996. – Abstr. C82.

143. Outpatient management of uncomplicated lower-extremity infections in diabetic patients [Text]/ B.A. Lipsky [et al.] // *Arch Intern Med.* – 1990. – Vol. 150. – P. 790-797.

144. Penetration of macrolides into human polymorphonuclear leucocytes [Text]/ M. Yshiguro [et al.] // *J Antimicrob Chemother.* – 1989. – Vol. 24. – P. 719–729.

145. Perner, A. High glucose impairs superoxide production from isolated blood neutrophils [Text]/ A. Perner, S.E. Nielsen, J. Rask-Madsen // *Intensive Care Med.* – 2003. – Vol. 29. – P. 642-645.

146. Peters E.J. Diagnosis and management of infection in the diabetic foot [Text]/ E.J. Peters, B.A. Lipsky // *Med Clin North Am.* – 2013. – Vol. 97. – P. 911-946.

147. Pharmacokinetics and penetration of moxifloxacin into infected diabetic foot tissue in a large diabetic patient cohort [Text]/ J. Majcher-Peszynska [et al.]; Moxifloxacin-DFI Study Group // *Eur J Clin Pharmacol.* – 2011. – Vol. 67. – P. 135-142.

148. Prediction of outcome in individuals with diabetic foot ulcers: focus on the differences between individuals with and with out peripheral arterial disease. The EURODIALE Study [Text]/ L. Prompers [et al.] // *Diabetologia.* – 2008. – Vol. 51, № 5. – P. 747-755.

149. Prevention and Management of Foot Problems in Diabetes: A Summary Guidance for Daily Practice Based on the 2015 IWGDF Guidance Documents [Text]/ N.C. Schaper [et al.] // *Diabetes Metab Res Rev.* – 2016. – Vol. 32 (Suppl. 1). – P. 7-15.
150. Proresolution Therapy for the Treatment of Delayed Healing of Diabetic Wounds [Text] /Y.Tang [et al.] // *Diabetes.* – 2013. – Vol.62. – P.617-627.
151. Quorum-sensing antagonistic activities of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: a global approach [Text]/ Y. Nalca [et al.] // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2006. – Vol. 50, № 5. – P. 1680-8.
152. Raspovic, K.M. Self-reported quality of life and diabetic foot infections [Text]/ K.M. Raspovic, D.K. Wukich // *J Foot Ankle Surg.* – 2014. – Vol. 53. – P. 716-719.
153. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version [Text]/ R.B. Rutherford [et al.] // *Vascular Surgery.* – 1997. – Vol. 26, №3. – P. 517-538.
154. Regional and systemic prophylaxis with teicoplanin in monolateral and bilateral total knee replacement procedures: study of pharmacokinetics and tissue penetration [Text]/ F. de Lalla [et al.] // *Antimicrob Agents Chemother.* – 1997. – Vol. 37. – P. 2693-2698.
155. Risk factors for developing osteomyelitis in patients with diabetic foot wounds [Text]/ L.A. Lavery [et al.]. *Diabetes Res Clin Prac.* – 2009. – Vol. 83. – P. 347-352.
156. Risk factors for foot infections in individuals with diabetes [Text]/ L.A.Lavery [et al.] // *Diabetes Care.* – 2006. – Vol. 29. – P. 1288-1293.
157. Risk of severe dysglycemia among diabetic patients receiving levofloxacin, ciprofloxacin, or moxifloxacin in Taiwan [Text]/ H.W. Chou [et al.] // *Clin Infect Dis.* – 2013. – Vol. 57. – P. 971-980.
158. Roeder B. Antibiotic beads in the treatment of diabetic pedal osteomyelitis [Text]/ B. Roeder, C.C. Van Gils, S. Maling // *J Foot Ankle Surg.* – 2000. – Vol. 39. – P. 124-130.
159. [Role of plasma growth factor in the healing of chronic ulcers of the lower legs and foot due to ischaemia in diabetic patients](#) [Text] / T. Miłek [et al.] // *Postepy*

Dermatol Alergol.– 2017. – Vol. 34, № 6. – P. 601-606. doi: 10.5114/pdia.2016.62415. Epub 2017 Dec 31.

160. Ryder, M.A. Catheter-related Infections: It's all about biofilm [Text]/ M.A. Ryder // Topics in Advanced Practice Nursing eJournal. – 2005. – Vol. 5, № 3.

161. Schaper, N.C. Diabetic foot ulcer classification system for research purposes: a progress report on criteria for including patients in research studies / N.C. Schaper // Diabetes Metab Res Rev. – 2004. – Vol. 20 (Suppl. 1). – P. 90-95.

162. Should oral antibiotics be given to "clean" foot ulcers with no cellulitis? [Text]/ A.V.M. Foster [et al.] // Abstract International Working Group on the Diabetic Foot. – Noordwijkerhout, Netherlands, 1999.

163. Silver dressings - do they work? [Text]// Drug Ther Bull. – 2010. – Vol. 48. – P. 38-42.

164. SIRS is valid in discriminating between severe and moderate diabetic foot infections [Text]/ D.K. Wukich [et al.] // Diabetes Care. – 2013. – Vol. 36. – P. 3706-3711.

165. Skin and nail mycoses in patients with diabetic foot [Text]/ M. Papini [et al.] // G Ital Dermatol Venereol. – 2013. – Vol. 148. – P. 603-608.

166. [Smoking increases the risk of diabetic foot amputation: A meta-analysis \[Text\]](#) / M. Liu [et al.] // Exp Ther Med.– 2018. – Vol. 15, № 2. – P. 1680-1685. doi: 10.3892/etm.2017.5538. Epub 2017 Nov 22.

167. Specific guidelines for the treatment of diabetic foot infections 2011 [Text]/ B.A. Lipsky [et al.]; International Working Group on Diabetic Foot // Diabetes Metab Res Rev. – 2012. – Vol. 28 (Suppl. 1). – P.234-235.

168. Sugiyama Y. Cytokines production from alveolar macrophages of rats fed by long term, low dose erythromycin [Text]/ Y. Sugiyama, S. Kitamura, T. Kasahara // European Respiratory Society. Annual Congress. – Berlin, 1997. – Abstr. P0432.

169. [Surgical offloading procedures for diabetic foot ulcers compared to best non-surgical treatment: a study protocol for a randomized controlled trial \[Text\]](#) / A.S. Finestone [et al.] // J Foot Ankle Res.– 2018. – Vol. 11. – P. 6. doi: 10.1186/s13047-018-0248-3. eCollection 2018.

170. Systematic review of antimicrobial agents used for chronic wounds [Text]/ S.M. O'Meara [et al.] // Brit J Surg. – 2001. – Vol. 88. – P. 4-21.

171. Tamaoki, J. The effects of macrolides on inflammatory cells [Text] / J. Tamaoki // Chest. – 2004. – Vol. 125. – P. 41–51.

172. Tamaoki, J. The effects of macrolides on inflammatory cells[Text] / J. Tamaoki //Chest. – 2004. – Vol. 125. – P. 41-51.

173. The antiinflammatory effect of erythromycin in zimozan induced peritonitis of mice [Text]/ K. Misaka [et al.] // J. Antimicrob. Chemother. – 1992. – Vol. 30. – P. 339-348.

174. [The Diabetic Foot Attack: This Too Late to Retreat!](#) [Text] / P.R.J. Vas [et al.] // Int J Low Extrem Wounds.– 2018. – Feb 1:1534734618755582. doi: 10.1177/1534734618755582. [Epub ahead of print]

175. The effect of diabetes and severe ischaemia on the penetration of ceftazidime into tissues of the limb [Text]/ J.T. Raymakers [et al.] // Diabet Med. – 2001. – Vol. 18. – P. 229-234.

176. The global burden of diabetic foot disease [Text]/ A.J. Boulton [et al.] // Lancet. – 2005. – Vol. 366(9498). – P. 1719-1724.

177. The impact of negative-pressure wound therapy with instillation compared with standard negative-pressure wound therapy: a retrospective, historical, cohort, controlled study [Text]/ P.J. Kim [et al.] // Plast Reconstr Surg. – 2014. – Vol. 133. – P. 709-716.

178. The pro-inflammatory environment in recalcitrant diabetic foot wounds [Text]/ J.B. Acosta [et al.] // Int Wound J. – 2008. – Vol. 5. – P. 530-539.

179. The utility of Gram stains and culture in the management of limb ulcers in persons with diabetes [Text]/ Z.G. Abbas [et al.] // Int Wound J. – 2012. – Vol. 9. – P. 677-682.

180. [Topical 5% potassium permanganate solution accelerates the healing process in chronic diabetic foot ulcers](#) [Text] / I. Delgado-Enciso [et al.] //Biomed Rep.– 2018. – Vol. 8, № 2. – P. 156-159. doi: 10.3892/br.2018.1038. Epub 2018 Jan 2.

181. Topical application of a gentamicin-collagen sponge combined with systemic antibiotic therapy for the treatment of diabetic foot infections of moderate severity: a

randomized, controlled, multicenter clinical trial [Text]/ B.A. Lipsky [et al.] // J Am Podiatr Med Assoc. – 2012. – Vol. 102. – P. 223-232.

182. Topical silver for preventing wound infection [Text]/ M.N. Storm-Versloot [et al.] // Cochrane Database Syst Rev. – 2010. – Mar 17. –CD006478.

183. Treatment of diabetic foot infections: Wagner classification, therapy, and outcome [Text]/ J.H. Calhoun [et al.] // Foot Ankle. – 1988. – Vol. 9. – P. 101-6.

184. Unresolved issues in the management of ulcers of the foot in diabetes [Text]/ W.J. Jeffcoate [et al.]; Working Group on the Diabetic Foot // Diabet Med. – 2008. – Vol. 25. – P. 1380-1389.

185. Use of ampicillin/sulbactam versus imipenem/cilastatin in the treatment of - threatening foot infections in diabetic patients [Text]/ M.L. Grayson [et al.] // Clin Infect Dis. – 1994. – Vol. 18. – P. 683-693.

186. Validation of the Infectious Diseases Society of America's diabetic foot infection classification system [Text]/ L.A. Lavery [et al.] // Clin Infect Dis. – 2007. – Vol. 44. – P. 562-565.

187. Vanuffel, P. Mechanism of action of streptogramins and macrolides [Text]/ P. Vanuffel, C. Cocito // Drugs. – 1996. – Vol. 51 (Suppl.1). – P. 20-30.

188. Voelker, R. [Diabetic Foot Ulcers Heal With Shock Wave Therapy \[Text\] / R. Voelker](#) //JAMA.– 2018. – Vol. 319, № 7. – P. 649. doi: 10.1001/jama.2018.0480. No abstract available.

189. Williams, J.D. Comparison of macrolide antibiotics [Text]/ J.D. Williams, A.M. Sefton // J. Antimicrob. Chemother. – 1993. – Vol. 31 (Suppl. C). – P. 11-26.

190. Wukich, D.K. [Assessing Health-Related Quality of Life in Patients With Diabetic Foot Disease: Why Is It Important and How Can We Improve? The 2017 Roger E. Pecoraro Award Lecture \[Text\] /D.K. Wukich, K.M. Raspovic](#) //Diabetes Care.– 2018. – Vol. 41, № 3. – P. 391-397. doi: 10.2337/dci17-0029.

191. Wukich D.K. Severity of diabetic foot infection and rate of limb salvage [Text]/ D.K. Wukich, K.B. Hobizal, M.M. Brooks // Foot Ankle Int. – 2013. – Vol. 34. – P. 351-358.