

На правах рукописи

СИФОРОВ РУСЛАН ВЛАДИМИРОВИЧ

**РОЛЬ МАКРОЛИДОВ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ С
ИНФЕКЦИЕЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ**

(экспериментально – клиническое исследование)

14.01.17 – Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Рязань – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Федосеев Андрей Владимирович**

Официальные оппоненты:

Бенсман Владимир Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей хирургии, профессор

Сонис Александр Григорьевич – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей хирургии, заведующий кафедрой

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Институт хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__»_____2018 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.084.04 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, д9)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (390026 г. Рязань, ул. Шевченко, д. 34) и на сайте www.rzgmu.ru

Автореферат разослан «__»_____2018г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук, доцент

Песков О.Д.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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 [Артыкова Д.М. и др., 2017]. 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 [Bus S.A. et al., 2016; Boulton A.J. et al., 2005].

Наиболее распространенным заболеванием является язвенное поражение стоп, причем, заболеваемость в год составляет примерно 2-4% в развитых странах [Bus S.A. et al., 2016; Boulton A.J. et al., 2005]. 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 [Удовиченко, О.В. и др., 2016; Lipsky B.A. et al., 2016; Prompers L. et al., 2008].

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 [Оболенский В.Н. и др., 2012; Шапкин Ю.Г. и др., 2012; Raspovic, K.M. et al., 2014]. Более того, инфекция стопы на фоне сахарного диабета требует госпитализации и способно

повлечь необходимость в срочной ампутации нижней конечности [Токмакова, А.Ю. и др., 2000; Lavery L.A. et al., 2007]. 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 [Hao D. et al., 2014; Peters E.J. et al., 2013].

Учитывая повышенную восприимчивость больных сахарным диабетом к инфекциям, в первую очередь, за счет снижения иммунологической реактивности, связанной с нарушением функции полиморфноядерных лейкоцитов, снижение функции моноцитов и лимфоцитов [Masuda M. et al., 1990; Hao Meng et al., 2014; Tang Y. et al., 2013], делает актуальными сравнительные исследования и анализ комбинированной антимикробной терапии с включением макролидов при лечении инфекции диабетической стопы.

Цель исследования

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

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 работы

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 работы

Полученные результаты позволили улучшить эффективность лечения пациентов с инфекцией диабетической стопы, как с нейропатической, так и с нейроишемической формой синдрома диабетической стопы (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.

Внедрение результатов работы

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.

Основные положения, 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.

Степень достоверности

Работа выполнена в два этапа. На первом – экспериментальное исследование на 75 крысах-самцах линии Wistar. На втором этапе клиническая работа в дизайне открытого проспективного рандомизированного сравнительного исследования с параллельной группой.

Статистическая обработка данных была проведена с использованием пакета прикладных программ STATISTICA (StatSoft Inc.США, версия 10.0) и пакета программного обеспечения «Microsoft Excel 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.

Апробация работы

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).

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

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 144 страницах машинописного текста; состоит из введения, четырех глав, выводов и практических рекомендаций, иллюстрирована 22 рисунками и 31 таблицей.

Список литературы состоит из 191 публикации: из них 51 отечественных и 140 зарубежных работ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в два этапа. На первом этапе выполнена экспериментальная работа на 75 крысах-самцах линии Wistar на базе вивария ЦНИЛ ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. На втором этапе выполнено комплексное обследование и лечение 65 пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа, синдромом диабетической стопы на базе отделения гнойной хирургии ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Рязани.

Первый этап (экспериментальная работа)

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.).

Лабораторным животным были сформированы модели аллоксанового диабета путем внутрибрюшинного введения раствора аллоксана гидрата (Индия) в 0,4 мл цитратного буфера в дозе 170 мг/кг массы тела и модель полнослойной плоскостной кожной раны спины размером 400 мм². 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.

Второй этап (клиническая работа)

Работа выполнена в дизайне проспективного рандомизированного сравнительного исследования с параллельной группой. В исследование были включены 65 пациентов с сахарным диабетом и синдромом диабетической стопы, находившиеся на стационарном лечении в отделении гнойной хирургии ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Рязани.

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.).

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, адъювантные методы лечения в группах пациентов не использовались.

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 > 80 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.

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 в соответствии с модифицированной шкалой Нейропатический Дисфункциональный счет**

(НДСм), оценка степени раневого дефекта по Wagner, измерении площади и глубины раневого дефекта, оценка выраженности инфекционного процесса (использовалась классификационная система разработанная Американским обществом инфекционистов и инфекционной частью классификации PEDIS).

Оценка состояния артериального кровотока в артериях нижних конечностей (ультразвуковое дуплексное сканирование артерий использованием аппарата AccuVix XG (USS-AVXGC30/RU), ультразвуковых датчиков 5,0 и 12,0 МГц.).

3. Общеклинический анализ крови, биохимический анализ крови по общепринятым методикам. Оценка состояния углеводного обмена (гликированный гемоглобин, липидный профиль).

4. Бактериологический анализ раневого отделяемого. Идентификация и определение антибиотикорезистентности микроорганизмов проводились на автоматизированном микробиологическом анализаторе «iEMS-Reader» («ТЕРМО-Labsystems», Финляндия) с использованием системы мультимикротестов, программных продуктов «ВАСТ» и «IDENT», «Журнал микробиолога».

5. Забор мазков-отпечатков ран и их световую микроскопию. Динамику течения патологического процесса оценивали путем исследования мазков-отпечатков по методу М.В. Покровского, М.С. Макаровой в модификации Д.М. Штейнберга (1948).

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.

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

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

б. Иммунологический анализ (определение бактериального фагоцитоза с оценкой степени завершенности (Нестерова И.В., 1996); спонтанный и стимулированный NBT-тест).

Рассчитывали:

- **Процент фагоцитоза** (% нейтрофильных гранулоцитов (%НГ)) – процент НГ, поглотивших микробы, из общего числа посчитанных нейтрофилов;

- **Функциональная активность НГ** (%), и абсолютное содержание функционально активных нейтрофилов (ФАН))

- **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)

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

- **Завершенность фагоцитарного акта**

Индекс переваривания (ИП)

$$\text{ИП} = \frac{\text{Муб}}{100}, \text{ где Муб – среднее число убитых микробов на 1 посчитанный НГ}$$

(т.е. на 100).

Процент переваривания (%П),

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

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.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе планиметрических исследований динамики заживления полнослойных кожных ран экспериментальных животных 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 завершено 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 ($p<0,05$) (табл. 1).

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.

Таблица 1 - Показатели поглотительной способности и завершенности фагоцитарного акта НГ периферической крови экспериментальных животных
(M± 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: р* - группа опыт 1/ контроль (p<0,05)

р** - группа опыт 1/ опыт 2 (p<0,05)

Основные дефекты нейтрофилов связаны со снижением показателей адгезии и фагоцитоза, содержания 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 ($p=0,0011$) (табл. 2).

Таблица 2 - Показатели микробицидной функции НГ периферической крови экспериментальных животных ($M \pm m$)

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

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

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

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 [Baltzis, D., 2014; Milek T., et al., 2017].

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.

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.

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), *Acinetobacter baumannii* complex, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*. 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 ($p>0,05$).

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 (рис. 1).

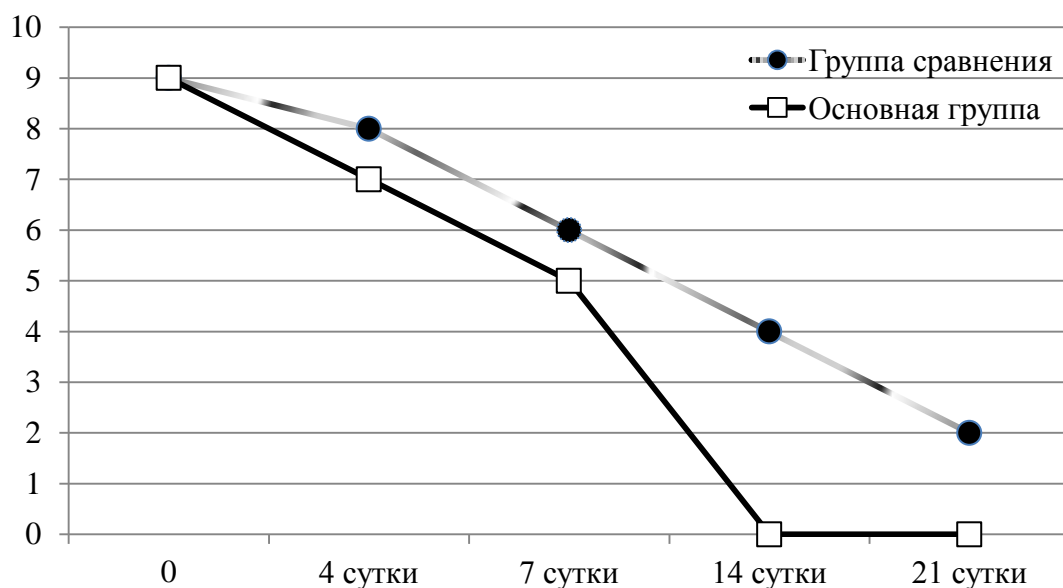


Рисунок 1 - Динамика микробной обсемененности раны, КОЕ/мл

Для отображения динамики воспалительного процесса в ране был подсчитан клеточный индекс. На основании чего было подтверждено более быстрое купирование воспалительного процесса в ранах пациентов основной группы ($p < 0,05$) (рис.2).

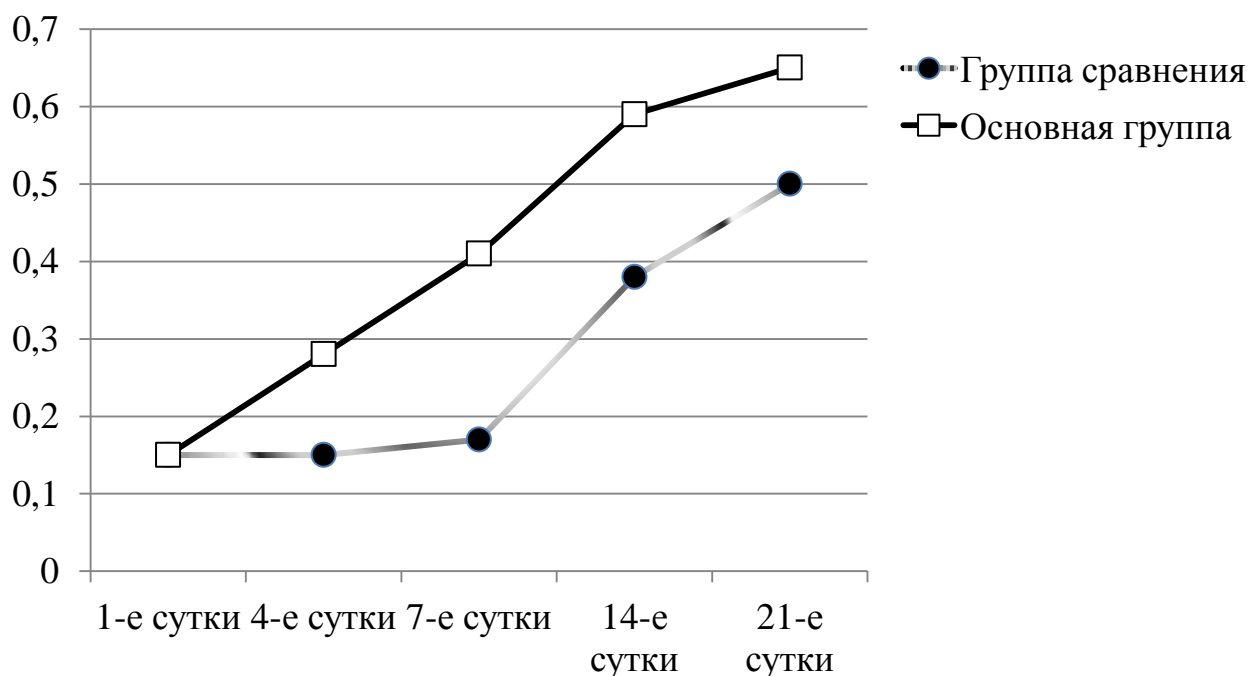


Рисунок 2 - Клеточный индекс раневого отделяемого в группах пациентов на фоне проводимого лечения

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.

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 цефалоспорины 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности микробного пейзажа раневой поверхности у больных с синдромом диабетической стопы [Текст]/ А.В.Федосеев [и др.]// Антибиотики и химиотерапия – 2016. –Т. 61, № 5-6. –С. 21-24. – (Соавт.: **Р. В. Сифоров**, А. С. Инютин, А. А. Чекушин, Д. В. Кроливец).
2. Влияние макролидов на фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови крыс на фоне аллоксанового диабета [Текст] / Н.В. Гаврилова [и др.]//VII Международный молодежный медицинский конгресс «Санкт-Петербургские научные чтения - 2017», Санкт-Петербург, 6-8 декабря 2017 г. –(Соавт.: А.С. Костюхина, **Р.В. Сифоров**, Д.Р. Зулпухаров).
3. Динамика фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови крыс на фоне сахарного диабета в эксперименте [Текст] / **Р.В. Сифоров** [и др.]// 3-й Международный научно-практический конгресс «Сахарный диабет и хирургические инфекции», Москва, 14-16 ноября 2017 г. – (Соавт.: А.В. Федосеев, В.И. Рогачев, Д. В. Кроливец, Н.В. Гаврилова).
4. Изменение в структуре возбудителей и динамика антибактериальной резистентности штаммов у больных синдромом диабетической стопы [Текст] / А.В.Федосеев [и др.]// Международная научно-практическая конференция «Хирургическая инфекции кожи и мягких тканей у детей и взрослых» (посвящена 140-летию проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого), Симферополь, 15-16 мая 2017 г. – (Соавт.: **Р.В. Сифоров**, С.Ю. Муравьев, В.И. Рогачев, Д. В. Кроливец).
5. Федосеев А.В. Анализ структуры возбудителей гнойно-некротического процесса у больных с синдромом диабетической стопы[Текст] / А.В. Федосеев,**Р.В. Сифоров**, Д.В. Кроливец // Хирургическая коррекция

эндокринных нарушений: сборник трудов, посвященный 25-летию отделения хирургической эндокринологии. – Рязань, 2017. – С 234-240.

6. Федосеев, А.В. Динамика раневого процесса при терапии кларитромицином у крыс при экспериментальном диабете [Текст] / А.В. Федосеев, **Р.В.Сифоров**, С.Ю.Муравьев // Таврический медико-биологический вестник. – 2017. – Т. 20, № 3. – С. 257-261.

7. Применение макролидов в лечении гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы [Текст] / А.В.Федосеев [и др.]// Уральский медицинский журнал. – 2018. – №3. – С. 95-98. – (Соавт.: **Р.В.Сифоров**, С.Ю. Муравьев, А. С. Инютин, Д.Р. Зулпухаров).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОИ - Американское общество инфекционистов

ИДС – инфекция диабетической стопы

ИП – индекс переваривания бактериального агента

КМ - коэффициент мобилизации

КОЕ – колониеобразующие единицы

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

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

ФЧ –фагоцитарное число

Цеф – цефалоспорин

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

%П – процент переваривания бактериального агента

ESBL – микроорганизм, продуцирующий бета-лактамазу расширенного спектра

Cipro – противосинегнойный фторхинолон

HbA1c – гликированный гемоглобин

IL – интерлейкин