

СОСТОЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА И ДИНАМИКА РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ С ОСЛОЖНЕННЫМИ ФОРМАМИ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

А.В.Прошин

Городская клиническая больница № 81, Москва, net.proshin@mail.ru

У больных с гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей проанализирована морфология раневого процесса и проведено его сравнительное исследование с больными на фоне сахарного диабета. Проведена оценка иммунного статуса пациентов на фоне иммунокоррекции полиоксидонием. За основу взяты гистологическое исследование биопсийного материала, результаты цитологического и иммуноцитохимического исследования.

Keywords: *раневого процесс, сахарный диабет, иммунный статус, полиоксидоний*

The morphology of the wound process in patients with pyonecrotic lesions of the lower extremities was analyzed and compared to investigation of the process in patients with diabetes mellitus. Evaluation of immune status of patients with immunocorrection Polyoxidonium was performed. Studying of biopsy material, cytology and immunocytochemical finding were used as the basis of the investigation performed.

Ключевые слова: *wound process, diabetes mellitus, immune status, polioksidonij*

Введение

Лечение больных с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы (СДС) является одной из трудных задач практической медицины, что подтверждается малой эффективностью большинства методов консервативного и хирургического лечения этой патологии. Только многоцелевое воздействие на различные звенья патогенеза осложненных форм СДС может остановить прогрессирование гнойно-некротического процесса [1-4].

Формирующаяся патогенетическая картина при СДС на фоне нарушенной гемодинамики и нарастающего метаболического дисбаланса неизбежно ведет к ряду иммунологических сдвигов, итогом которых является локальный иммунодефицит. В такой ситуации даже незначительная травма приобретает характер стремительно прогрессирующего инфекционного очага, нередко являющегося основной причиной применения радикальных методов лечения. В связи с существованием проблемы развития рецидивов гнойных осложнений в хирургическом лечении синдрома диабетической стопы, требующих порой экстренного оперативного лечения, в гнойной хирургии нашли применение значительное количество различных противовоспалительных и иммуномодулирующих препаратов, однако задача остается нерешенной. На фоне возникающего вторичного иммунодефицитного состояния у больных СДС проведение оперативного лечения с анестезиологическим пособием, кровопотерей, антибиотикотерапией углубляет нарушения целого ряда показателей иммунного статуса как на системном, так и на местном уровнях, энергетического статуса фагоцитов и иммунцитов, при этом развивается «окислительный стресс», а проводимая традиционная терапия у таких пациентов чаще всего не позволяет адекватно корригировать как иммунные, так и окислительные изменения, что диктует целесообразность включения в интра- и послеоперационном

периоде дополнительных способов и средств иммунокоррекции.

Изучение особенностей течения раневого процесса является одним из основных направлений в решении проблемы гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы и тактике хирургического лечения. В последние годы отмечается рост заболеваемости сахарным диабетом (СД). Каждый второй больной СД подвергается хирургическому вмешательству, причем нередко в связи с гнойно-некротическими изменениями на стопах, которые встречаются у 28,6-65% таких больных [1-3]. В настоящее время высказывается мнение, что СД негативно влияет на течение раневого процесса [3,4], замедляет заживление ран, которые приобретают длительный, рецидивирующий характер. Особенности раневого процесса обусловлены нарушением тканевого кровообращения в участках поражения, нарушениями всех видов обмена в организме, ведущих к развитию ацидоза, гипоксии и метаболической интоксикации [5,6], присутствием анаэробно-аэробной микрофлоры в очагах гнойного воспаления [7].

Целью данной работы является сравнительное морфологическое исследование раневого процесса у больных с гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей на фоне течения сахарного диабета и оценка иммунного статуса пациентов на фоне его коррекции полиоксидонием.

Материал и методы исследования

Клинические данные основаны на материале, полученном при обследовании больных, имеющих гнойные раны на стопе. Основную I группу составили 89 пациентов, не страдающих СД, контрольную II группу — 93 больных с гнойно-некротическим процессом на стопе, протекающем на фоне СД. Средний возраст, пол, характер гнойно-некротического процесса на стопе и другие параметры были сопостави-

мы в выделенных клинических группах. Морфологические исследования проводились с использованием биопсийного материала для гисто-, цито- и иммуноцитохимического анализа.

Морфологическое исследование включало в себя гистологический метод (48 биоптатов) и иммуноморфологический метод (25 биоптатов).

Гистологический метод. Биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине и по общепринятой методике заливали в парафиновые блоки. Изготовленные из парафиновых блоков гистологические срезы толщиной 4-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Препараты изучали и фотографировали с использованием системы микроскоп (DMLB Leica Germany) — видеокамера JVC (USA) — компьютер Pentium IV.

Иммуноморфологический метод. Иммунопероксидазным методом с использованием четырех моноклональных антител исследовали особенности грануляционной ткани в двух группах наблюдений. Изучали те же биоптаты (25 из 48), которые исследовали гистологическим методом. В качестве первичных специфических антител использовали моноклональные антитела производства фирм NOVOCASTRA, DAKO и Lab Vision к маркеру эндотелия сосудов, антигену CD31 (позволяет визуализировать сосуды в тканях) и к коллагену I типа (для оценки качества коллагенообразования), к Т-лимфоцитам-хелперам (CD4) и Т-лимфоцитам-супрессорам и киллерам (CD8).

С целью визуализации результата реакции связывания антигена с антителом использовали систему детекции «UltraVision LP Value HRP Polymer» (козьи антитела к кролику и мыши), Lab Vision США. Результат реакции с антителами к коллагену оценивали по общепринятой системе полуколичественным методом в баллах от 0 до 3 (отсутствие реакции, слабая, умеренная и выраженная реакция), с антителами к Т-лимфоцитам-хелперам, супрессорам/киллерам — по количеству в грануляционной ткани таких клеток в поле зрения при 400-кратном увеличении.

Визуализацию раневого процесса осуществляли, ориентируясь на следующие критерии: степень выраженности и продолжительности воспалительных проявлений в области раны (отек, гиперемия, раневой экссудат), состояния дна раны, а также фиксировали сроки появления грануляций, начала эпителизации и заживления раневых дефектов. Анализ раневого процесса проводили комплексно, согласно стадиям его развития. С целью определения уровня фагоцитоза у 37 больных при поступлении на 1-2-е сутки и в динамике на 5-7-е сутки от начала лечения определяли спонтанную и стимулированную хемилюминесценцию нейтрофилов. В те же сроки у 48 больных исследовали уровень Ig классов A, M, G сыворотки крови [8]. Концентрация С-реактивного белка и антигена фактора фон Виллебранда в сыворотке крови изучена у 30 больных твердофазным иммуноферментным методом, с использованием реактивов фирмы DAKO (Дания) и международных стандартов (NIBSC, Англия).

В качестве нормы были использованы величины данных показателей в плазме крови у 37 доноров. Были получены следующие результаты: уровень протеиназной активности составил $64,8 \pm 3,7$ ед., содержание диеновых конъюгатов $51,6 \pm 3,5$ ед, белковосвязанного оксипролина — $112,9 \pm 4,6$ ед., С-реактивного белка — $11,12 \pm 0,65$ мг/л, спонтанной хемилюминесценции нейтрофилов — $2,6 \pm 0,3 \cdot 10^4$ имп./мин, стимулированной хемилюминесценции нейтрофилов — $19,6 \pm 1,8 \cdot 10^4$ имп./мин.

Иммунодефицитные проявления, наблюдающиеся у пациентов с синдромом диабетической стопы, стали основанием для внедрения в комплекс лечебных мероприятий иммунокоррекции полиоксидонием. Иммунокоррекция полиоксидонием проводилась в курсовой дозе 30 мг.

Результаты исследования и обсуждение

При морфологическом исследовании образцов ткани до начала лечения отмечено, что у больных обеих групп ткани в области раны подвержены некротическим изменениям, отмечалась лейкоцитарная инфильтрация и многочисленные колонии кокковых бактерий.

Дерма, а также элементы рыхлой соединительной ткани были в состоянии деструкции с образованием многочисленных микроабсцессов. Помимо этого в тканях раны отмечали выраженные микроциркуляторные расстройства: дилатацию сосудов, явления стаза в них, наличие микротромбов, разрушение стенки сосудов. Деструктивные процессы с разволокнением миофибрилл распространялись и на мышечную ткань.

Лечение больных I и II групп традиционной терапией (больным II группы дополнительно проводили коррекцию углеводного обмена) в сочетании с местной, приводило к купированию отека и гиперемии кожи вокруг раны. У больных I группы это происходило через $5,8 \pm 0,7$ суток, тогда как у 30% больных II группы — через $12,5 \pm 0,3$ суток, а у остальных 70% — лишь через $14,9 \pm 1,2$ суток. Очищение ран от гнойно-некротических масс у больных I группы проходило в среднем на $7,4 \pm 0,2$ сутки. У пациентов II группы эти сроки сдвигались: у 20% — до $16,9 \pm 1,2$ суток, у 58% — до $19,6 \pm 1,2$ суток и у 22% — до $19,9 \pm 0,9$ суток.

Анализ морфологических исследований свидетельствует о торможении раневого процесса в группе больных с СД. Удлиняются сроки резорбции и отторжения некротических тканей в ране, длительное время наблюдается отек, что согласуется с данными других исследователей [9].

Цитологическое исследование раневого экссудата больных I и II группы дополняло морфологическую картину. В цитограммах отмечалось преобладание нейтрофильных лейкоцитов до 69 ± 2 в поле зрения пациентов I группы и до $75 \pm 3,1$ — в поле зрения у пациентов II группы. Число разрушенных нейтрофилов при этом составляло в I группе $8,8 \pm 0,5\%$, с признаками дегенеративных изменений — $79,6 \pm 2,8\%$, количество нейтрофилов с сохраненной структурой составляло $11,6 \pm 1,7\%$.

Цитологическая картина пациентов II группы носила несколько иной характер: преобладали дегенеративные и разрушенные формы нейтрофилов ($82,2 \pm 2,4\%$ и $11,6 \pm 0,5\%$ соответственно), тогда как количество сохранных форм составляло $6,2 \pm 0,5\%$. В цитограммах II группы больных в значительном количестве присутствовали микроорганизмы кокковой флоры. Отмечалось отсутствие макрофагов и полибластов. Незавершенный фагоцитоз в полинуклеарах составлял $78 \pm 2,1\%$. Тип цитограмм больных обеих групп соответствовал дегенеративно-воспалительному, хотя у пациентов II группы число разрушенных нейтрофилов явно преобладало.

Переход ко второй фазе раневого процесса сопровождался уменьшением инфильтрации мягких тканей. У пациентов I группы уже на 7-10-е сутки поверхность ран покрывали грануляции. В грануляционной ткани преобладали пучки коллагеновых волокон, среди которых располагались веретенообразные фибробласты и фиброциты. Основной функцией этих клеток является, очевидно, регуляция метаболизма и механической стабильности матрикса. В грануляционной ткани отмечаются явления ангиогенеза. Процесс регенерации распространяется и на мышечную ткань, в которой имеет место формирование мышечных трубочек.

У пациентов II группы значительно, практически в 1,5 раза, замедляется процесс перехода во вторую фазу. Замедляется по сравнению с I группой процесс дифференцировки фибробластов и образование коллагеновых волокон. Наблюдается умеренное количество вновь сформированных сосудов. В гистологических препаратах больных СД на 14-е сутки отмечается меньшее содержание макрофагов в гнойной ране (на 41% меньше по сравнению с I группой). Недостаточное содержание макрофагов, стимулирующих пролиферацию фибробластов и синтез коллагена, вероятно, объясняет торможение процессов формирования грануляции.

Анализ цитограмм пациентов II группы позволяет отметить, что раневой процесс сопровождается явлениями диабетической микроангиопатии, выражены изменения дермы, имеет место гиалиноз соединительной ткани. Наряду с образованием грануляционной ткани после быстрого ее очищения от некротических масс вновь могут формироваться участки с зонами некроза и колониями бактерий. Характерной особенностью таких событий является недостаточность клеточной реакции со слабой или не выраженной лейкоцитарной инфильтрацией. Наличие множественных микробных ассоциаций в патологическом очаге, высокая степень обсемененности микробами тканей замедляет сроки очищения и заживления ран у больных с осложненными формами диабетической стопы. Такому течению раневого процесса нередко способствуют изменения в системе клеточного и гуморального иммунитета: снижение активности Т- и В-лимфоцитов (CD4, CD8).

На 18-е сутки течения раневого процесса количество нейтрофилов в цитограмме у больных I группы составляло $27,3 \pm 1,7$, на 25-е сутки они практически не выявлялись. Тип цитограммы соответствовал регенераторно-воспалительному. А вот у больных II группы на 25-е сутки в цитограмме все еще могли определяться измененные формы нейтрофилов, содержание которых приближалось к $30,7 \pm 1,7$. Воспалительная фаза раневого процесса переходит у больных I группы на $10,4 \pm 0,2$ сутки в репаративную фазу, в то время как у пациентов II группы она отодвигается на 20-27-е сутки. Размеры ран сокращаются за счет эпителизации и контракции рубцовой ткани. Наряду с регенерацией соединительной ткани дермы кожи и ее производных, волосяных фолликулов, происходит восстановление эпителиального пласта.

Анализ клинической картины заболевания в группе больных, которым наряду с общепринятым лечением проводилась иммунокоррекция полиоксидонием, показал, что значительные позитивные сдвиги имелись уже на 5-7-е сутки. К этому сроку субъективное улучшение происходило у 66,5% пациентов. Они отмечали исчезновение или значительное уменьшение болевого синдрома в покое, парестезий, чувства жжения. Наблюдались позитивные сдвиги в течение местного процесса: обратное развитие трофических нарушений, отграничение и отторжение поверхностных некрозов на стопе, переход влажной гангрены в сухую форму. На фоне иммунокоррекции отмечено возрастание относительного количества лимфоцитов периферической крови с 46% до 56,4%, CD4+ — с 25,7% до 42,6%, CD8+ — с 9,7% до 26%. Также выявлялась тенденция к увеличению числа В-лимфоцитов и уровня иммуноглобулинов.

Выводы

Таким образом, при различном генезе гнойных ран их биологическая сущность остается единой. Однако раневой процесс у больных с сахарным диабетом сопровождается рядом особенностей:

- 1) снижением численной плотности сосудов грануляционной ткани;
- 2) значительным замедлением и нарушением созревания грануляционной ткани, дистрофическими нарушениями пучков коллагена;
- 3) появлением очагов нагноения грануляционной и зрелой соединительной ткани.

Включение в комплексное хирургическое лечение полиоксидония позволяет считать его препаратом, обладающим выраженной иммуностропной активностью. Применение полиоксидония при распространенности гнойно-некротического поражения диабетической стопы приводит к нормализации клеточных, гуморальных иммунопараметров и факторов неспецифической резистентности, обеспечивает оптимальное течение раневого процесса. Морфологическая картина диабетических ангиопатий и нейропатий

с микроциркуляторной дисфункцией способствуют гипоксии тканей раны и при сочетанном снижении клеточного и гуморального иммунитета нарушают течение раневого процесса, удлиняя сроки и фазы заживления ран.

Все вышеизложенное свидетельствует о необходимости комплексной морфологической оценки для эффективного контроля за течением раневого процесса. Описанный подход позволяет адекватно оценить его степень, глубину с целью разработки и применения оправданного алгоритма антибактериального, противовоспалительного, противоболевого, противоревматического, иммунокорректирующего и стимулирующего репаративные процессы лечения гнойных ран мягких тканей, что, несомненно, позволит улучшить качество жизни пациента без увеличения или с минимальной операционной активностью.

1. Greenhalgh D.G. Wound healing and diabetes mellitus // J. Clin. Plast. Surg. 2003. V.30. №1. P.37-45.
2. Гостищев В.К., Афанасьев А.Н. Стандарты лечебно-диагностических мероприятий у больных диабетической остеоартропатией и гнойно-некротическими поражениями стоп // Сб. статей конф. «Стандарты диагностики и лечения в гнойной хирургии». М., 2001. С.107-112.
3. Брискин Б.С., Дибиров М.Д., Хамитов Ф.Ф., Прошин А.В., Якобишвили Я.И. Гнойно-некротические осложнения синдрома диабетической стопы и их отражение в МКБ-10 и стандартах страховой медицины // Хирургия. 2007. №1. С.49-55.
4. Светухин А.М., Земляной А.Б. Хирургические подходы в тактике лечения гнойно-некротических форм диабетической стопы // Современные аспекты диагностики, лечения, профилактики поражений нижних конечностей у больных сахарным диабетом: Тр. науч.-практ. конф. М., 1996. С.177-183.
5. Дедов И.И., Анцифоров М.Б., Галстян Г.Р., Токмакова А.Ю. Синдром диабетической стопы. Клиника, диагностика, лечение и профилактика. М., 1998. 150 с.
6. Мясник Б.Н., Абидов М.М., Каримов З.З. Сцинтиграфическая оценка эффективных и нестандартных методов хирургического лечения критической ишемии нижних конечностей // Хирургия. 2002. №6. С.48-51.

7. Кошелев П.И., Карпунин Г.Н., Губин А.М. Применение антибактериальных препаратов и внутривенного лазерного облучения крови в комплексном лечении гнойно-хирургических заболеваний нижних конечностей у больных с диабетической ангиопатией // Ангиология и сосудистая хирургия. 1997. № 2. С.107.
8. Mancini G., Carbonara A.O., Heremans J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion // Immunochem. 1965. V.2. №3. P.235-254.
9. Шулуто А.М., Антропова Н.В., Крюгер Ю.А. Нетерапия у больных сахарным диабетом, осложненным гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей // Хирургия. 2004. №12. С.43-46.

Bibliography (Transliterated)

1. Greenhalgh D.G. Wound healing and diabetes mellitus // J. Clin. Plast. Surg. 2003. V.30. №1. P.37-45.
2. Gostiwev V.K., Afanas'ev A.N. Standarty lecheniadiagnosticheskikh meroprijatij u bol'nyh diabeticheskoy osteoartropatii i gnojno-nekroticheskimi porazhenijami stop // Sb. statej konf. «Standarty diagnostiki i lechenija v gnojnoj hirurgii». M., 2001. S.107-112.
3. Briskin B.S., Dibirov M.D., Hamitov F.F., Proshin A.V., Jakobishvili Ja.I. Gnojno-nekroticheskie oslozhnenija sindroma diabeticheskoy stopy i ih otrazhenie v MKB-10 i standartah strahovoj mediciny // Hirurgija. 2007. №1. S.49-55.
4. Svetuhin A.M., Zemljanov A.B. Hirurgicheskie podhody v taktike lechenija gnojno-nekroticheskikh form diabeticheskoy stopy // Sovremennye aspekty diagnostiki, lechenija, profilaktiki porazhenij nizhnih konechnostej u bol'nyh saharnym diabetom: Tr. nauch.-prakt. konf. M., 1996. S.177-183.
5. Dedov I.I., Ancifirov M.B., Galstjan G.R., Tokmakova A.Ju. Sindrom diabeticheskoy stopy. Klinika, diagnostika, lechenie i profilaktika. M., 1998. 150 s.
6. Mjasnik B.N., Abidov M.M., Karimov Z.Z. Scintigraficheskaja ocenka jeffektivnyh i nestandartnyh metodov hirurgicheskogo lechenija kriticheskoy ishemii nizhnih konechnostej // Hirurgija. 2002. №6. S.48-51.
7. Koshelev P.I., Karpuhin G.N., Gubin A.M. Primenenie antibakterial'nyh preparatov i vnutrivennogo lazernogo obluchenija krovi v kompleksnom lechenii gnojnohirurgicheskikh zabolevanij nizhnih konechnostej u bol'nyh s diabeticheskoy angiopatiej // Angiologija i sosudistaja hirurgija. 1997. № 2. S.107.
8. Mancini G., Carbonara A.O., Heremans J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion // Immunochem. 1965. V.2. №3. R.235-254.
9. Shulutko A.M., Antropova N.V., Krjuger Ju.A. No-terapija u bol'nyh saharnym diabetom, oslozhnennym gnojno-nekroticheskimi porazhenijami nizhnih konechnostej // Hirurgija. 2004. №12. S.43-46.