

На правах рукописи

Солуянов Михаил Юрьевич

РЕГИОНАРНАЯ ЛИМФОСТИМУЛЯЦИЯ И МЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ
АУТОЛОГИЧНЫХ ЛИМФОЦИТОВ В ЛЕЧЕНИИ ДИАБЕТИЧЕСКИХ
ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ

14.01.17 – хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2010

Работа выполнена в Учреждении Российской академии медицинских наук
Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной
лимфологии Сибирского отделения РАМН (г. Новосибирск)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
член-корреспондент РАМН

Любарский Михаил Семенович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук

Шевела Андрей Иванович

Сафонов Виталий Алексеевич

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Сибирский государственный
медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и
социальному развитию» (г. Томск)

Защита состоится «___» _____ 2010 г. в ___ часов на заседании
диссертационного совета Д 208.062.03 при Новосибирском государственном
медицинском университете (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52;
тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского
государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск,
Красный проспект, 52)

Автореферат разослан «___» _____ 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук

М. Н. Чеканов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, на сегодняшний день насчитывается более 150 000 000 больных сахарным диабетом. Исходя из распространенности данного заболевания и тенденции к его росту, можно полагать, что к 2010 году количество больных увеличится до 230 000 000. Частота больших ампутаций в ежегодном выражении, по данным различных авторов, колеблется от 0,06 % до 3,86 % на 10 000 больных [Jeffcoate W. J., 2004]. В России частота ампутаций (данные Государственного регистра) у больных сахарным диабетом варьирует от 0,76 до 18,2 случаев на 1 000 больных. При этом у 85 % больных этому предшествовали язвенные дефекты стоп. В среднем в 60 % случаев причиной ампутаций является гангрена, наличие инфекции менее распространено и, по различным данным, наблюдается в 20 – 50 % . При сахарном диабете имеют место как локальные, так и системные патологические процессы, влияющие на замедление заживления, что имеет существенную роль в формировании хронического процесса. Среди местных процессов отмечают нарушения цитокинового профиля [Lobman R., Ambrosch A., 2002] и наблюдаемую высокую протеазную активность [Бондаренко О. Н., Галстян Г. Р., 2004]. К системным процессам относят нарушения периферического кровообращения, а также снижение функциональной активности лейкоцитов [Jefcoate W. J., Harding K., 2003]. Работами сотрудников НИИ клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения РАМН (далее по тексту – НИИКЭЛ СО РАМН) доказана существенная роль лимфатической системы в генезе синдрома диабетической стопы [Авдониная О. Г., 2002; Мустафаев Н. Р., 2004]. Таким образом, возможность влияния на местные иммунные процессы в диабетической ране, коррекция лимфатической системы региона и оптимизация лимфатического дренажа обуславливают актуальность настоящей проблемы.

Цель исследования. Улучшить результаты лечения больных с трофическими язвами на фоне сахарного диабета с использованием регионарной лимфостимуляции и местного применения активированных аутологичных лимфоцитов.

Задачи исследования:

1. Разработать методику лечения трофических язв на фоне сахарного диабета с использованием местного применения активированных аутологичных лимфоцитов.
2. Разработать способ регионарной лимфостимуляции при лечении трофических язв на фоне сахарного диабета.
3. Изучить течение воспалительного процесса и изменения в лимфатическом регионе нижних конечностей при использовании регионарной лимфостимуляции и местном применении активированных аутологичных лимфоцитов.
4. Провести сравнительную оценку результатов лечения больных сахарным диабетом с трофическими язвами нижних конечностей при использовании регионарной лимфостимуляции, местном применении активированных аутологичных лимфоцитов и стандартных методов.

Научная новизна. Изучено течение местного воспалительного процесса на фоне местного применения активированных аутологичных лимфоцитов у больных с трофическими язвами на фоне сахарного диабета; доказана эффективность, которая проявляется в увеличении скорости заживления язвы, ускорении среднесуточной скорости эпителизации на 28,9 %. Изучено состояние гемо- и лимфоциркуляции в регионе пораженной конечности на фоне проведения регионарной лимфостимуляции. Доказано увеличение артериального притока, улучшение венозного оттока и лимфодренажной функции региона нижней конечности, что способствует ускорению процессов регенерации в трофической язве. Изучены особенности местного иммунитета трофических язв нижних конечностей на фоне сахарного диабета. Доказано, что местное использование активированных аутологичных лимфоцитов приводит к купированию иммуновоспалительных реакций, о чем свидетельствуют снижение концентрации цитокинов IL-1b и IL-4 и уменьшение концентрации ЦИК в сыворотке венозной крови, оттекающей от трофической язвы.

Практическая значимость. Разработана методика местного применения активированных аутологичных лимфоцитов, которая позволяет значительно улучшить результаты лечения трофических язв на фоне сахарного диабета: появление грануляционной ткани приходилось на 7-е сутки, эпителизации раны на 10-е сутки, полное заживление трофических язв наступало на 30-е сутки.

Разработан способ регионарной лимфостимуляции, позволяющий улучшить регионарный лимфоток, нормализовать венозный отток, значительно улучшить артериальный приток, что способствует уменьшению отека конечности, перифокальной инфильтрации трофической язвы и, в свою очередь, значительно сокращает сроки появления в ране очаговой и краевой эпителизации. Проведена сравнительная оценка результатов лечения пациентов с трофическими язвами на фоне сахарного диабета при использовании местного применения активированных аутологичных лимфоцитов, регионарной лимфостимуляции и стандартных методов. Доказана высокая эффективность предложенных методов по сравнению со стандартными способами.

Положения, выносимые на защиту:

1. Использование аутологичных активированных лимфоцитов местно у пациентов с трофическими язвами на фоне сахарного диабета положительно влияет на течение воспалительного процесса в ранах, что позволяет значительно сократить сроки их заживления.

2. Регионарная лимфостимуляция позволяет улучшить гемолимфоциркуляцию в регионе пораженной конечности: скорость артериального притока увеличилась на 29 %, лимфатического оттока – на 31 %, объем лимфатического оттока увеличился на 24,5 %, показатель состояния сосудистого тонуса – на 15,9 %, индекс эффективности микроциркуляции – на 16 %.

3. Местное применение активированных аутологичных лимфоцитов положительно сказывается на состоянии местного иммунитета диабетической раны, что проявляется в снижении концентрации цитокинов IL-1b и IL-4, уменьшении концентрации ЦИК в сыворотке венозной крови, оттекающей от трофической язвы : отмечалось снижение показателей в группе лейкинферона и регионарной лимфостимуляции по сравнению с группой стандартного лечения : ИЛ-1b – $81 \pm 9,1$ пг/мл; ИЛ-4 – $46 \pm 10,1$ пг/мл; ЦИК – $79 \pm 6,2$ усл.ед.

4. Местное применение активированных аутологичных лимфоцитов и регионарная лимфостимуляция позволяют значительно ускорить процессы заживления трофических язв на фоне сахарного диабета по сравнению со стандартными методами: полное заживление язв в группе с применением

активированных аутологичных лимфоцитов и регионарной лимфостимуляции ускорилось по сравнению с группой стандартного лечения на 25,4 %.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации доложены на III Международном хирургическом конгрессе (Москва, 2008), III Международном симпозиуме и IX Чуйской научно-практической конференции (Бишкек, 2007), II съезде хирургов Сибири и Дальнего Востока (Владивосток, 2007), III съезде лимфологов с международным участием (Новосибирск, 2008), Российской научно-практической конференции, посвященной 75-летию МУЗ ГKB № 2 и 10-летию кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф (Новосибирск, 2008).

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования внедрены в научно-исследовательскую работу лаборатории оперативной лимфологии НИИ КиЭЛ СО РАМН (г. Новосибирск) и лечебную работу отделения хирургии Некоммерческого Фонда «Медсанчасть 168» (г. Новосибирск).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 печатных работ, из которых 2 – в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ. Получен 1 патент РФ на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация включает в себя введение, научный литературный обзор, главу «Материалы и методы исследования», 3 главы с изложением собственных результатов исследования, обсуждение полученных результатов, выводы и практические рекомендации, список литературы (172 источника – 118 отечественных и 54 зарубежных). Диссертационное исследование изложено на 131 странице, содержит 21 таблицу и 14 рисунков.

Личный вклад автора. Диссертационный материал в полном объеме собран, обработан и проанализирован лично автором.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИКЭЛ СО РАМН (протокол № 31 от 06.04.2007).

Было проведено клиническое исследование, основанное на анализе 160 наблюдений пациентов с синдромом диабетической стопы, осложненным развитием трофической язвы (стадия 1 – 2 по классификации Wagner M., 1980).

В условиях хирургического отделения стационара клиники НИИКЭЛ СО РАМН пациенты случайным методом были разделены на 3 группы (группа сравнения, первая основная группа, вторая основная группа).

Критерии включения: мужчины или женщины в возрасте от 35 до 75 лет, страдающие сахарным диабетом типа 2, средней и тяжелой степени тяжести, осложненным синдромом диабетической стопы с развитием трофических язв; больные для коррекции состояния углеводного обмена получали таблетированные сахароснижающие препараты, инсулинотерапию или комбинированную терапию; больные находились на стационарном лечении; стаж диабета – от 1 до 30 лет.

Критерии исключения: любое сопутствующее состояние, которое, по мнению исследователя, могло препятствовать оценке ответа или делало маловероятным выполнение запланированного курса терапии (например, ожидаемая продолжительность жизни менее 30 дней); пациенты с противопоказаниями или аллергией на любой препарат, применяемый в исследовании; наличие острой печеночной недостаточности или острой декомпенсации хронической печеночной недостаточности; перенесенная трансплантация органов; одновременное участие в другом клиническом исследовании; ВИЧ-инфекция; медицинские состояния, которые могли повлиять на проведение исследования – психические заболевания, наличие алкогольной или наркотической зависимости, аутоиммунные заболевания, тяжело протекающие аллергические заболевания, тяжелое соматическое состояние, обусловленное прогрессирующими заболеваниями печени, сердечно-сосудистой системы, почек, органов дыхания, системы крови, а также эндокринного или церебрального происхождения, некорректируемая гипертензия; пациенты, находящиеся в группе риска по развитию тромбоэмболических осложнений; любые другие состояния, которые, по мнению исследователя, могли помешать включению больного в исследование или его успешному завершению.

Характеристика групп. 1-я группа – сравнения. Группа сравнения включала 49 человек, пациенты получали стандартное лечение диабетических трофических язв (стандартное лечение пациентов всех групп осуществлялось согласно Приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 01.12.2005 г. № 735).

2-я группа – первая основная (78 человек). На фоне стандартного лечения проводилась регионарная лимфостимуляция и инъекции лейкинферона в ткани по периферии трофической язвы (края и дно язвы).

3-я группа – вторая основная (33 человека). Одновременно со стандартным лечением проводилась регионарная лимфостимуляция и инъекции собственных лимфоцитов, активированных лейкинфероном в параульцерозные ткани.

Методы лечения. Выделение и модуляция лимфоцитов проводились с помощью процедуры лимфоцитафереза на сепараторе клеток крови AS-TEC 204 фирмы «Fresenius». Скорость эксфузии клеток составляла 40 - 50 мл/час. Для выделения клеток использовались лимфоцитарные сетки С4У. Выделенные лимфоциты – 400 – 1000 клеток/мл экспонировали в течение 1 часа с 20 мг лейкинферона при температуре 24 – 26 °С. На курс лечения процедура лимфоцитафереза повторялась трижды с интервалом 48 часов.

Приготовленная смесь лимфоцитов пациента в количестве 100 – 250 клеток/мл (2 мл) вводилась из 4 точек по периферии раны. Инъекции проводились в условиях перевязочной во вторую и третью фазы раневого процесса.

При выполнении регионарной лимфостимуляции (патент РФ от 10.09.2008 г. № 2332990 «Способ лечения трофических язв у больных сахарным диабетом») пациент находится в положении лежа на животе. Ориентирами служат проекции периферических нервов n. tibialis и n. suralis на голени. Объем лекарственной смеси составляет 6 – 7 мл и вводится в две точки с медиальной и латеральной поверхности ахиллова сухожилия пораженной конечности. В состав комплексной лекарственной смеси входят: 4 мл 10-процентного раствора анемкаина, 25 мг химотрипсина, 80 мг актовегина, 0,5 мл прозерина. Противопоказания: местные воспалительные процессы в регионе выполнения инъекций. Кратность манипуляций 3 с интервалом 48 часов.

Методы обследования больных. В рамках протокола клинических исследований проводили оценку динамики показателей лимфотока, кровотока, раневого процесса, баланса про- и противовоспалительных цитокинов и циркулирующих иммунных комплексов в венозной крови, оттекающей от трофической язвы.

Реолимфовазография сосудов нижних конечностей. Проводили на приборе «РПГ– 02» по методу, разработанному в НИИКЭЛ СО РАМН с целью оценки лимфодинамики и показателей кровотока конечностей.

Лазерная доплеровская флоуметрия. Проводили на приборе «ЛАК-001». Оценивали показатель микроциркуляции; миогенную активность вазомоторов; сосудистый тонус; внутрисосудистое сопротивление; индекс эффективности микроциркуляции.

Оценка раневого процесса. Осуществляли исследование скорости уменьшения площади трофической язвы (по формуле Мизурова Н. А., 1998).

Проводили цитологическое исследование мазков-отпечатков ран (по методу М. П. Покровской и М. С. Макарова, 1942). Мазки забирали в первые сутки госпитализации, затем на 7-е, 14-е и 21-е сутки лечения.

Определение циркулирующих иммунных комплексов и интерлейкинов в венозной крови, оттекающей от трофической язвы. Проводился забор венозной крови (4 мл) из большой подкожной вены на стопе в области медиальной лодыжки. Место забора выбрано с учетом постоянства топографо-анатомического положения вены, легкости доступа к ней, простоты забора венозной крови, максимальной близости расположения к трофическим язвами стопы. Забор крови осуществлялся до начала лечения и на 14-е сутки нахождения пациента в стационаре в асептических условиях.

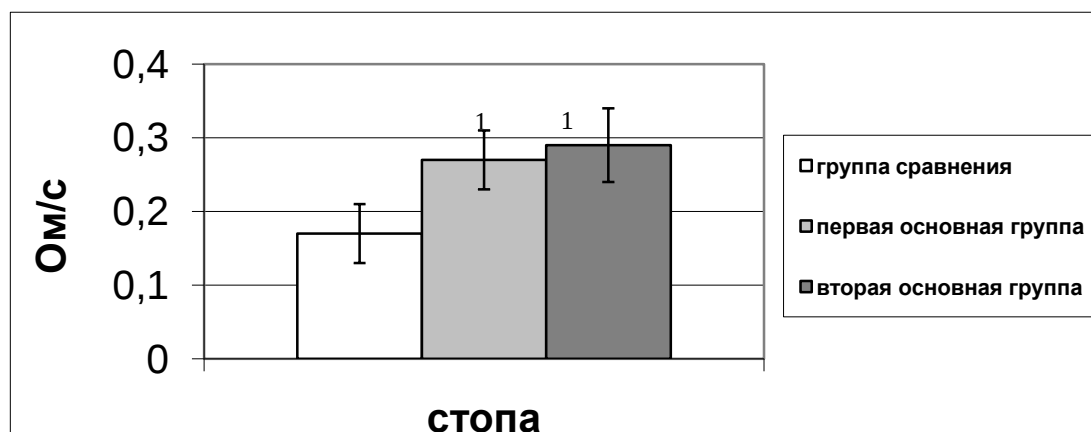
Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проводили методом жидкостной преципитации в 7,5-процентного полиэтиленгликоля-6000 на 0,01М боратном буфере pH 8,4.

Определение ИЛ-1b, ИЛ-4 в сыворотке крови выполнялось на коммерческих тест-системах производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) по инструкции производителя.

Статистическая обработка полученных данных. Количественные данные, полученные в работе, были обработаны с помощью общепринятых методов системного анализа с использованием программ "EXCEL" и "Statistica-6". Количественные данные представлены в виде $M \pm \sigma$ (где M – среднее значение, σ – стандартное отклонение). При проверке статистических гипотез критический уровень значимости принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении сравнительных исследований более оптимальные результаты были получены в группе пациентов, получавших регионарную лимфостимуляцию и местное применение лейкинферона нежели в группе получавшей только стандартное лечение. Наиболее значимые результаты были отмечены на фоне курса лечения, включавшего регионарную лимфостимуляцию и местное применение активированных аутологичных. При оценке данных реолимфовазографии в исследуемых группах нами были отмечены характерные изменения. Объемные показатели артериального притока возрастали на стопе во 2-й основной группе (отличия от группы сравнения составило 8,7 %, от 1-й основной – 2,6 %). Отличие показателя КСАП на стопе в 1-й основной группе составило 3,8 %, во 2-й основной группе – 12,6 %. Скоростные характеристики артериальной рекурренции наиболее существенно изменились во 2-й основной группе (произошло их уменьшение), в группе сравнения исследуемый параметр подвергся менее выраженной динамике. Объемные показатели артериальной рекурренции не претерпели существенных изменений в 1-й и 2-й основных группах, тем не менее, статистически достоверно отличались от данных группы сравнения. По окончании периода наблюдения КСАР возрастало от группы сравнения ко 2-й основной. Максимальные отличия в этой позиции составили 23 %. В показателях лимфатического оттока после проведенного курса лечения также имеются достоверные изменения (рис. 1).



Примечание: 1 – отличия достоверны по отношению к группе сравнения ($p < 0,05$).

Рис. 1. Показатели скорости лимфатического оттока после лечения по данным РЛВГ

Скорость лимфатического оттока изменяется по нарастающей от группы сравнения ко второй основной группе. Отличие СЛО в первой основной группе от группы сравнения составляет 37,03 % (0,10 Ом/с), а во второй основной группе от группы сравнения составляет 41,37 % (0,12 Ом/с). При этом различие между основными группами составляет 6,8 % (0,02 Ом/с). Объем лимфатического оттока увеличивается от группы сравнения ко второй основной группе. При этом отличие показателя первой основной группы от группы сравнения на стопе составило 30,7 % (0,08 Ом). Отличие показателя второй основной группы от группы сравнения составило на уровне стопы 35,7 % (0,1 Ом). В основных группах отличие объема лимфатического оттока составило 7,14 % (0,02 Ом). Значения КСЛО устойчиво снижаются от группы сравнения ко 2-й основной группе. Регистрируемые данные в 1-й основной группе отличаются от группы сравнения на 0,44 с/Ом (11,6 %). Во 2-й основной группе значение показателя меньше, чем в группе сравнения, на 0,56 с/Ом (14,9 %). Отмечается характерная и разнонаправленная динамика показателей венозного оттока, которая была обнаружена в группах исследования. СВО была равнозначной в группе сравнения и второй основной группе. Отличие показателя зарегистрировано в первой основной группе на 0,07 Ом/с (24,1 %) от группы сравнения и на 0,06 Ом/с (20,6 %) от второй основной группы. Объем венозного оттока в основных группах увеличивался и отличался от группы сравнения: на 0,06 Ом (17,8 %) в первой основной группе и на 0,07 Ом (23,3 %) во второй основной группе. Динамика КСВО характеризовалась уменьшением от группы сравнения ко второй основной группе. Отличие показателя в группе сравнения и первой основной группе было незначимым. Отличие показателя в группе сравнения и второй основной группе было недостоверным и составило соответственно 0,16 с/Ом (5,04 %) и 0,24 с/Ом (7,6 %).

В результате проведенной **лазерной доплеровской флоуметрии** был зарегистрирован показатель микроциркуляции после курса лечения минимальный в первой и второй основных группах, максимальный – в группе сравнения. При этом отличие показателя во второй основной группе и группе сравнения составило 2,47 пер. ед. (16,01 %), в первой основной группе и группе сравнения – 1,23 пер. ед. (7,9 %). Исследования миогенной активности вазомоторов после курса лечения выявили максимальные значения во 2-й основной группе, минимальные – в группе сравнения, при этом различия

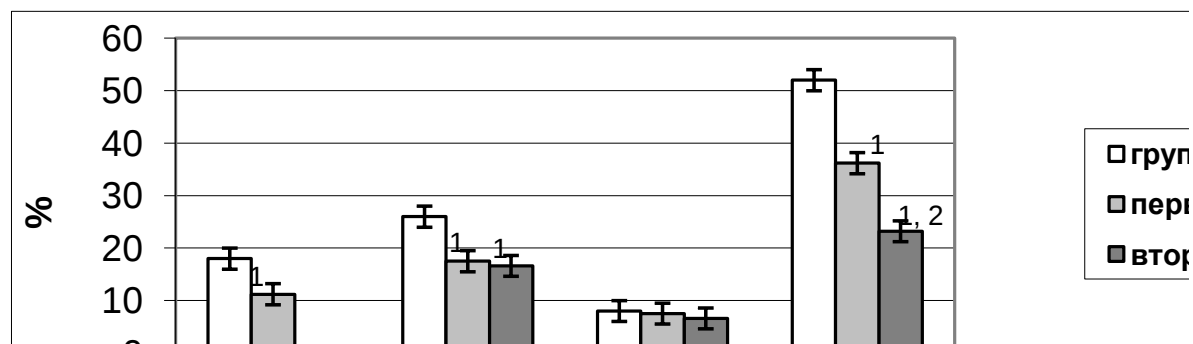
изучаемого параметра в группе сравнения и 2-й основной группах составили 6,81 (4,17 %), а между основными группами – 4,77 (2,9 %).

В результате проведенного лечения цифровые характеристики сосудистого тонуса были низкими в группе сравнения, высокими в 1-й основной группе. Во 2-й основной группе изучаемый параметр находился на уровне средних значений. Наибольшая разница в значениях данного параметра, наблюдаемая в группе сравнения и 1-й основной группе, составила 3,29 (6,6 %). После проведенного курса лечения показатель внутрисосудистого сопротивления оказался минимальным во второй основной группе, максимальным – в группе сравнения. Разница в группах составила 0,68 (13,7 %). Оцениваемый индекс эффективности микроциркуляции по окончании курса лечения достиг наибольших значений во 2-й основной группе (1,29), существенно не отличаясь от данных, полученных в 1-й основной группе. Наибольшая разница в показателях наблюдалась во 2-й основной и группе сравнения – 0,2 (16 %).

При оценке сроков исчезновения отека, сроков некролиза не было выявлено значимых различий в группах исследования. В среднем в группе сравнения, первой основной группе и второй основной группе ликвидация отека наступала на 3-и сутки, некролиз – на 4-е сутки. В группе стандартного лечения появление грануляционной ткани в язвах наступало на 13-е сутки, в группе регионарной лимфостимуляции и лейкинферона на 9-е сутки, в группе с применением активированных лимфоцитов на 7-е сутки. Признаки краевой и очаговой эпителизации появлялись на 18-е сутки в группе сравнения, на 13-е сутки – в первой основной группе и на 10-е сутки – во второй основной группе. Полное заживление язв наступало на 41-е сутки на фоне стандартного лечения, на 36-е сутки – на фоне регионарной лимфостимуляции и лейкинферона, на 30-е сутки – на фоне местного применения активированных аутологичных лимфоцитов.

При исследовании сроков появления вторичных некрозов после первичной ультразвуковой некрэктомии, контрольными мы выбрали 1 – 3-и сутки, 4 – 6-е сутки, 7 – 10-е сутки. На 1 – 3-и сутки в группе сравнения вторичные некрозы были выявлены, у 18 % $\pm$ 1,4 %, в первой основной группе – у 1,2 % $\pm$ 1,7 %, во второй основной группе вторичных некрозов в язвах не было ни в одном наблюдении. На 4 – 6-е сутки после первичной некрэктомии вторичные некрозы были выявлены в группе сравнения у 26 % $\pm$ 3,6 %, в

первой основной группе – у $17,5 \% \pm 2,1 \%$, во второй основной группе – у $16,6 \% \pm 2,4 \%$ пациентов. На 7 – 10-е сутки в группе сравнения вторичные некрозы были зарегистрированы у $8 \% \pm 0,9 \%$ пациентов, в первой основной группе – у $7,5 \% \pm 1,1 \%$, во второй основной – у $6,6 \% \pm 0,8 \%$ пациентов. Результаты представлены на рис. 2.



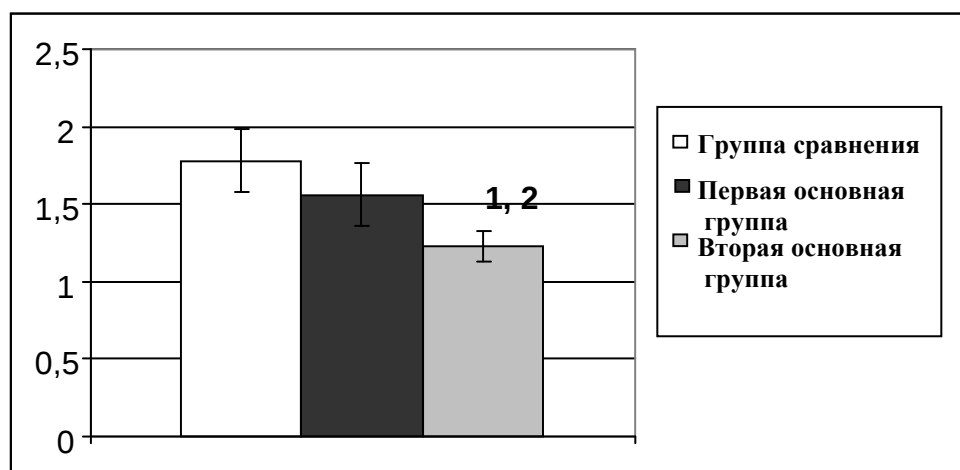
Примечания:

1 – отличия достоверны по отношению к группе сравнения ($p < 0,05$);

2 – отличия достоверны по отношению к 1-й основной группе ($p < 0,05$)

Рис. 2. Количество пациентов с вторичными некрозами после первичной ультразвуковой некрэктомии

Общее количество некрэктомий (на одного пациента) в группе сравнения было $1,78 \pm 0,19$, в 1-й основной группе – $1,56 \pm 0,14$, во 2-й основной группе – $1,2 \pm 0,05$, что достоверно отличается от показателей в группе сравнения и 1-й основной группе. Результаты приведены на рис. 3.



Примечания:

1 – отличия достоверны по отношению к группе сравнения ($p < 0,05$);

2 – отличия достоверны по отношению к 1-й основной группе ($p < 0,05$)

Рис. 3. Количество некрэктомий в расчете на одного пациента

На 21-е сутки в группе сравнения в $53,76 \% \pm 3,6 \%$ случаев зарегистрированы цитограммы регенераторного типа, то есть на фоне

стандартной программы лечения лишь в половине случаев к 21-му дню лечения первая фаза раневого процесса перешла во вторую. В 1-й основной группе в указанные сроки наблюдения цитограммы регенераторного типа отмечены уже в $78,3 \pm 6,7$ % клинических наблюдений. При изучении мазков-отпечатков язв на 21-й день лечения у пациентов 2-й основной группы в $91,3 \pm 6,3$ % наблюдений имели место цитограммы регенераторного типа.

При анализе динамики площади язвенной поверхности было отмечено, что скорость уменьшения площади язвы возрастает от группы стандартного лечения к группе с применением активированных аутологичных лимфоцитов. Так, минимальная средняя скорость уменьшения площади язвы наблюдалась в группе сравнения ($3,57 \% \pm 0,24 \%$ в сутки), наибольшая скорость уменьшения язвы отмечена во 2-й группе ($5,14 \% \pm 0,24 \%$ в сутки).

Сравнительная оценка параметров местного иммунитета на фоне применения различных методов лечения. При исследовании уровня цитокинов венозной крови, оттекающей от трофической язвы, в группе сравнения были получены самые высокие показатели: содержание ИЛ-1b – 175 ± 12 пг/мл; ИЛ-4 – 86 ± 11 пг/мл; ЦИК – 139 ± 12 усл.ед. В первой основной группе исследования на фоне параульцерозного введения раствора лейкоинферона отмечалось снижение провоспалительных цитокинов: ИЛ-1b – $126 \pm 10,2$ пг/мл; ИЛ-4 – $59 \pm 7,2$ пг/мл; ЦИК – 121 ± 9 усл.ед. Во второй основной группе исследования на фоне регионарной лимфостимуляции и местной клеточной терапии отмечалось прогрессивное снижение по сравнению с первой основной группой и группой сравнения: ИЛ-1b – $81 \pm 9,1$ пг/мл; ИЛ-4 – $46 \pm 10,1$ пг/мл; ЦИК – $79 \pm 6,2$ усл.ед. (таблица).

Заключение. В результате проведенных исследований были обнаружены изменения в лимфатической системе региона конечности и параметрах местного раневого иммунитета. Предложенные методики позволили улучшить результаты лечения пациентов с диабетическими трофическими язвами.

Показатели цитокинового профиля венозной крови, оттекающей от трофической язвы, до и на 14-е сутки лечения

	Группа сравнения		Первая основная группа		Вторая основная группа	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
ИЛ-1b пг/мл	421 ± 1,8	175 ± 12	401 ± 1,1	126 ± 10,2*	399 ± 1,3	81 ± 9,1* [†] *
ИЛ-4 пг/мл	362 ± 1,1	86 ± 11	307 ± 1,6	59 ± 7,2*	334 ± 1,4	46 ± 10,1* [†] *
ЦИК усл.ед.	433 ± 1,2	139 ± 12	456 ± 1,3	121 ± 9*	478 ± 1,9	79 ± 6,2* [†] *

* показатели достоверны по отношению к соответствующим показателям группы сравнения ($p < 0,05$);

*[†] показатели достоверны по отношению к соответствующим показателям первой основной группы ($p < 0,05$)

ВЫВОДЫ

1. Разработанный метод лечения трофических язв на фоне сахарного диабета с использованием местного применения активированных аутологичных лимфоцитов позволяет ускорить полное заживление язв на 25,4 % и уменьшить количество повторных некрэктомий на 28,5 %.

2. Разработанный метод регионарной лимфостимуляции позволяет активно воздействовать на все звенья микроциркуляции в регионе пораженной конечности: скорость артериального притока увеличилась на 29 %, скорость лимфатического оттока – на 30,5 %, объем лимфатического оттока – на 24,5 %, показатель состояния сосудистого тонуса – на 15,9 %, индекс эффективности микроциркуляции – на 16 %.

3. Особенностью течения местного воспалительного процесса диабетической трофической язвы на фоне применения регионарной лимфостимуляции и местного применения активированных аутологичных лимфоцитов является значительное уменьшение иммуновоспалительных реакций в ране, о чем свидетельствует снижение концентрации цитокинов ИЛ-1b до $81 \pm 9,1$ пг/мл; ИЛ-4 – до $46 \pm 10,1$ пг/мл; ЦИК – до $79 \pm 6,2$ усл.ед. в сыворотке венозной крови, оттекающей от трофической язвы.

4. Сравнительная оценка эффективности предложенных методов лечения доказывает, что местное применение активированных аутологичных лимфоцитов и регионарная лимфостимуляция позволяют значительно ускорить процессы заживления диабетических ран и улучшить состояние регионарной гемолимфоциркуляции у пациентов с трофическими язвами на фоне сахарного диабета по сравнению со стандартными методами: отличие показателя скорости артериального притока составило 13,2 %, объема артериального притока – 7,14 %, полное заживление язв ускорилось на 25,4 %, количество повторных некрэктомий уменьшилось на 28,5 %.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для улучшения показателей лимфотока, артериального и венозного кровотока у больных с трофическими язвами на фоне сахарного диабета наряду с общепринятыми методами необходимо применять регионарную лимфостимуляцию смесью лекарственных препаратов: 4 мл 10-процентного раствора анекаина, 25 мг химотрипсина, 80 мг актовегина, 0,5 мл прозерина. Введение лекарственной смеси осуществляется в проекции периферических нервов n. tibialis и n. suralis на голени, в две точки с медиальной и латеральной поверхности ахиллова сухожилия пораженной конечности. Регионарную лимфостимуляцию рекомендуется выполнять трижды с интервалом 48 часов.

2. Получение фракции лимфоцитов периферической крови целесообразно с использованием плазмифракционатора Fresenius AS-TEC 204. Взвесь лимфоцитов (при концентрации $0,4-1 \times 10^3$ в мл) следует экспонировать в течение 60 минут при температуре 24 – 26 °C с 20 мг лейкинферона.

3. Для лечения трофических язв на фоне сахарного диабета необходимо использовать местное введение активированных лейкинфероном аутологичных лимфоцитов путем инъекций в параульцерозные ткани из 4 точек по периферии трофической язвы в количестве 100 – 250 клеток/мл (2 мл) с каждой стороны. Инъекции проводятся трижды, с интервалом 48 часов, во вторую и третью фазу раневого процесса.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние эфферентно-клеточных технологий на микроциркуляцию у пациентов с синдромом диабетической стопы / В. И. Коненков,

Н. Р. Мустафаев, А. А. Смагин, **М. Ю. Солуянов**, Р. С. Хапаев, О. В. Каменская, Е. В. Шевцова // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2007. – № 2. – С. 91–93.

2. Влияние местного применения активированных аутологичных лимфоцитов на динамику раневого процесса и состояние местного иммунитета у пациентов с трофическими язвами на фоне сахарного диабета / **М. Ю. Солуянов**, М. С. Любарский, О. А. Шумков, Д. В. Хабаров, Н. П. Бгатова // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2008. – № 2. – С. 96–99.

3. Применение регионарной лимфостимуляции и местной клеточной терапии в лечении трофических язв на фоне сахарного диабета / М. С. Любарский, О. А. Шумков, Д. В. Хабаров, **М. Ю. Солуянов**, М. В. Кочеткова, Е. В. Шевцова, Б. А. Болботеков // Хирургия, Морфология, Лимфология. – 2007. – Том 4, № 8. – С. 29–30.

4. Возможности применения активированных аутологичных лимфоцитов в местном лечении трофических язв на фоне сахарного диабета / **М. Ю. Солуянов**, М. С. Любарский, В. В. Нимаев, О. А. Шумков // Лимфология. – 2009. – № 1-2. – С. 170–172.

5. Морфологические характеристики активированных аутологичных лимфоцитов на сорбционной салфетке / **М. Ю. Солуянов**, О. А. Шумков, В. В. Нимаев, И. В. Майбородин, М. В. Кочеткова, И. А. Алтухов, Е. В. Шевцова // Проблемы саногенного и патогенного эффектов экологического воздействия на внутреннюю среду организма : материалы VIII Международного симпозиума и IX Чуйской научно-практической конференции. – Бишкек, 2007. – С. 195–197.

6. Применение клеточных технологий в лечении трофических язв на фоне сахарного диабета / **М. Ю. Солуянов**, М. С. Любарский, В. В. Нимаев, И. А. Алтухов, Е. А. Комбанцев // Материалы III Международного хирургического конгресса. – М., 2008. – С. 273.

7. Применение лимфотропных и клеточных технологий в лечении трофических язв на фоне сахарного диабета / М. С. Любарский, В. В. Нимаев, **М. Ю. Солуянов**, И. А. Алтухов, М. В. Кочеткова, Е. В. Шевцова // Материалы II съезда хирургов Сибири и Дальнего Востока. – Владивосток, 2007. – С. 117 – 118.

8. Аутологичные лимфоциты, активированные лейкинфероном, в лечении трофических язв на фоне сахарного диабета / **М. Ю. Солуянов**, М. С. Любарский, В. В. Нимаев, О. А. Шумков, М. В. Кочеткова // Новые технологии в травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии : тезисы докладов Российской научно-практической конференции, посвященной 75-летию МУЗ ГKB № 2 и 10-летию кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф. – Новосибирск, 2008. – С. 72 – 73.

9. Лимфотропно-сорбционные и клеточные технологии в лечении трофических язв на фоне синдрома диабетической стопы / О. А. Шумков, М. С. Любарский, В. И. Коненков, **М. Ю. Солуянов**, Н. Р. Мустафаев // Избранные вопросы гнойной хирургии : руководство для врачей. – Бишкек-Новосибирск, 2007. Издательство Алтын Тамга – С. 173 – 187.

10. Принципы диагностики синдрома диабетической стопы / М. С. Любарский, В. В. Морозов, А. А. Смагин, М. А. Колпаков, М. Л. Пупышев, В. В. Нимаев, О. А. Шумков, Д. В. Хабаров, О. В. Каменская, Р. С. Хапаев, **М. Ю. Солуянов** // Хирургическая анатомия нижних конечностей, трофические язвы и длительно незаживающие раны : руководство для врачей. – Бишкек-Новосибирск, 2009. Издательство НЦРВХ МЗ КР – С. 267 – 279.

Пат. 2332990 Российская Федерация, Способ лечения трофических язв у больных сахарным диабетом / Любарский М.С., **Солуянов М.Ю.**, Нимаев В.В., Шумков О.А.; заявитель и патентообладатель ГУ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН; заявл. 27.03.2007; опубл. 10.09.2008. Бюл. № 25.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

РЛВГ	– реолимфовазография
КСАП	– кинетическое сопротивление артериальному притоку
КСАР	– кинетическое сопротивление артериальной рекурренции
СЛО	– скорость лимфатического оттока
КСЛО	– кинетическое сопротивление лимфатическому оттоку
СВО	– скорость венозного оттока
КСВО	– кинетическое сопротивление венозному оттоку
ИЛ-1b	– интерлейкин-1
ИЛ-4	– интерлейкин-4
ЦИК	– циркулирующие иммунные комплексы