МИНИСТЕРСТВО ОБОРОНЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ВЫСОКИХ МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ
ИМЕНИ А.А. ВИШНЕВСКОГО»

На правах рукописи

МАРКЕВИЧ ПАВЕЛ СЕРГЕЕВИЧ

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ И РЕАЛИЗАЦИЯ СИСТЕМНОЙ МОДЕЛИ КОМПЛЕКСНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ ФОРМОЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ И ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Специальность - 3.1.9. Хирургия

Научный консультант:
доктор медицинских наук, профессор
Александр Владимирович Есипов

г. Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 6
ВВЕДЕНИЕ 7
Цель исследования 13
Задачи исследования 14
Научная новизна исследования 15
Практическая значимость работы 17
Основные положения, выносимые на защиту 18
Апробация диссертации 20
Публикации 21
Объем и структура работы 21
Личный вклад автора 22
Внедрение 22
Благодарность 22
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 23
1.1 Этиопатогенез синдрома диабетической стопы (СДС) 23
1.2 Связь синдрома диабетической стопы и венозной недостаточности 35
1.3 Инфекция при синдроме диабетической стопы 38
1.4 Биопленки – основная форма существования микробных сообществ 44
1.5 Особенности резистентности к антибактериальным средствам инфекций СДС 49
1.6 Бактериофаги – постантибиотическая эра 55
1.7 Низкотемпературная аргоновая плазма в лечении инфекций СДС 62
ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 79
2.1 Медико-социальная характеристика больных 79
2.2 Характеристика методов исследования 93
2.3 Лабораторные методы обследования больных 94
2.3.1 Методика микробиологического выявления полирезистентных возбудителей 94
2.3.2 Методика проведения индивидуального подбора бактериофагов к полирезистентному возбудителю 95
2.3.3 Методика определения активных продуктов ПОЛ 96
2.4 Клинико-инструментальные методы обследования больных 99
2.4.1 Оценка выживаемости патогенных микроорганизмов ESKAPE после воздействия НТАП 99
2.4.2 Методика проведения эндовенозной лазерной коагуляции вен лазерным аппаратом «ИРЭ-ПОЛЮС» 105
2.4.3 Методика определения площади трофических язв 106
2.4.4 Методика выполнения дупексного сканирования вен нижних конечностей 107
2.5 Методы статистической обработки данных 107

ГЛАВА III. ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С СДС 109
3.1 Особенности микробного пейзажа у больных с инфекционными осложнениями СДС 109
3.2 Резистентность возбудителей инфекционного процесса к антибактериальным препаратам 114
3.3 Факторы риска развития полирезистентной раневой инфекции у больных с синдромом диабетической стопы 121
ГЛАВА IV. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТАРГЕТНОЙ БАКТЕРИОФАГОТЕРАПИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СДС 124
4.1 Актуальность исследования 124
4.2 Объекты исследования 125
4.3 Результаты исследования 130
4.4 Бактериологическое исследование – оценка динамики изменений микробной обсемененности раны (общее микробное число) 131
4.5 Оценка динамики синдрома системного воспалительного ответа на фоне фаготерапии 134
4.6 Обсуждение результатов 135
ГЛАВА V. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ ДЛЯ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СДС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ 137
5.1 Актуальность исследования 137
5.2 Оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость микроорганизмов и их ассоциаций *in vitro* 137
5.2.1 Исследования, проведенные с применением эталонных музейных культур 137
5.2.2 Исследования, проведенные с применением штаммов микроорганизмов, выделенных из ран 148
5.2.3 Исследования, проведенные со смесью эталонных музейных культур и штаммов микроорганизмов, выделенных из поверхностных ран 163
5.3 Оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на пролиферацию фибробластов *in vitro* 169
5.3.1 Характеристика культуры диплоидных клеток человека 169
5.3.2 Схемы экспериментов 169
5.4 Оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на пролиферативную активность фибробластов человека *in vitro* 171
5.5 Воздействие аргоновой плазмой на фоне экранирования клеток коллагеновой повязкой 179
5.6 Оценка влияния факторов низкотемпературной аргоновой плазмы на течение раневого процесса у больных СДС 187

5.7 Анализ результатов исследования 188
ГЛАВА VI. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРРЕКЦИИ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВАРИАНТОВ НАРУШЕНИЯ КРОВОТОКА У БОЛЬНЫХ С СДС 207
6.1 Исследование клинической эффективности оперативной коррекции нарушений венозного кровотока у пациентов с СДС 207
6.1.1 Объекты, материалы и методы исследования 208
6.1.2 Результаты хирургического лечения 216
6.1.3 Особенности инфекционного процесса СДС на фоне ХВН и в динамике лечения 219
6.2 Оценка эффективности препарата цитофлавин на метаболизм 223
6.2.1 Лабораторная оценка эффективности препарата цитофлавин и ЭВЛК 223
6.2.1.1 Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса 223
6.2.1.2 Показатели гликемического профиля 226
ГЛАВА VII. АЛГОРИТМ ТАКТИКИ КОМПЛЕКСНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СДС 234
7.1 Базовая терапия 237
7.1.1 Компенсация сахарного диабета 238
7.1.2 Антимикробная терапия 238
7.1.3 Применение препаратов метаболической модуляции 242
7.1.4 Местное медикаментозное лечение 243
7.1.5 Местное применение бактериофагов 244
7.1.6 Применение низкотемпературной аргоновой плазмы 245
7.1.7 Коррекция гиперкоагуляционных и сосудистых осложнений 245
7.2 Комплексное хирургическое лечение больных с трофическими язвами СДС (II-III WIFI) 246
7.2.1 Общие положения 246
7.2.2 Особенности хирургической обработки у больных с ТЯ при СДС на фоне полирезистентной флоры 248
7.2.3 Особенности пластических операций у больных с ТЯ при СДС (II-III WIFI) 255
ГЛАВА VIII. ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ СДС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЭНДОВАЗАЛЬНОЙ ЛАЗЕРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ В СОЧЕТАНИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИТОФЛАВИНА 263
8.1 Динамика показателей венозного статуса 264
8.2 Анализ показателей венозного оттока 268
8.3 Динамика показателей антиоксидантной системы и гликемического профиля 273
8.3.1 Динамика изменения концентрации МДА у больных исследуемых групп 274
8.3.2 Динамика изменения активности каталазы у больных исследуемых групп 275

8.3.3 Динамика изменения показателей гликемического профиля 277
8.4 Сроки возникновения рецидивов трофических язв в отдаленном периоде 278
ГЛАВА IX. ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ПАЦИЕНТАМ С СДС И ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИЕЙ 281
9.1 Проблемы догоспитального этапа и пути их решения 282
9.1.1 Анализ социально-экономических детерминант течения СДС 282
9.1.2 Особенности организации эндокринологического наблюдения у пациентов с СДС и полирезистентной раневой инфекцией 284
9.1.3 Влияние метаболического контроля на частоту рецидивов и заживление при СДС 287
9.1.4 Оценка обеспеченности пациентов средствами ортопедической разгрузки в зависимости от наличия полирезистентной раневой инфекции 288
9.2 Обоснование необходимости изменения системы маршрутизации пациентов с СДС и полирезистентной инфекцией 292
9.3 Ожидаемый эффект от внедрения корректив 304
9.4 Анализ текущих протоколов лечения 305
9.5 Послегоспитальное ведение и профилактика рецидивов 309
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 314
ВЫВОДЫ 329
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 333
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 336

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДА	Американская диабетическая ассоциация
АФК	Активные формы кислорода
ВОП	Вено-окклюзионная плетизмография
ЕАИД	Европейская ассоциация изучения диабета
ИП	Индекс пролиферации
КИК	Критическая ишемия конечностей
МДА	Малоновый диальдегид
ММП	Матриксные металлопротеиназы
НТАП	Низкотемпературная аргоновая плазма
НГОБ	Неферментирующие граммотрицательные бактерии
ОААНК	Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей
ОАП	Остеоартропатия (стопа Шарко)
ПРМ	Полирезистентная микрофлора
СДС	Синдром диабетической стопы
ТБК	Тиобарбитуровая кислота
ТЯ	Трофическая язва
ЦКМ	Целостность клеточных мембран
УЗДГ	Ультразвуковая допплерография
ХАННК	Хроническая артериальная недостаточность нижних конечностей
ХАП	Холодная атмосферная плазма
ЭНЗВД	Эндотелий–независимая вазодилятация
ЭВЛК	Эндовазальная лазерная коагуляция
ANOVA	Дисперсионный анализ
AUC VEGF-A	Метрика оценки качества модели для фактора роста эндотелия сосудов
FDA	Управление по контролю за продуктами и лекарствами (США)
WIFI	Международная классификация рана, ишемия, инфекция
MRSA	Метициллин-резистентный золотистый стафилококк
MRSE	Метициллин-резистентный эпидермальный стафилококк
ESBL	Бета-лактамазы расширенного спектра
CRE	Устойчивые к карбапенемам энтеробактерии
MDR-PA	Мультирезистентный Pseudomonas aeruginosa
DFI	Инфекция диабетической стопы
DFU	Диабетическая язва стопы
IWGDF	Международная рабочая группа по диабетической стопе
CDC	Американский центр контроля и профилактики заболеваний
MDR	Мультирезистентная фора
AMR	Антимикробная резистентность

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследований

Сахарный диабет стремительно становится одной из самых масштабных проблем современного здравоохранения. По данным Международной федерации диабета (IDF), в 2021 году число людей, страдающих этим заболеванием, достигло 537 миллионов, что составляет около 10% мирового населения в возрасте от 20 до 79 лет. Ожидается, что к 2030 году эта цифра увеличится до 643 миллионов, а к 2045 году – до 783 миллионов. При этом почти 240 миллионов человек даже не подозревают о своём диагнозе [145].

В 2022 году, по оценкам экспертов, число взрослых (18 лет и старше), живущих с диабетом, достигло 828 миллионов (95% доверительный интервал [CRI]: 757–908 миллионов). Это заметный рост по сравнению с 1990 годом, когда таких пациентов было 630 миллионов (554–713 миллионов). За период с 1990 по 2022 год распространённость диабета с учётом возрастных факторов увеличилась в 131 стране среди женщин и в 155 странах среди мужчин, причём апостериорная вероятность этого роста превышала 0,80. Эти данные подчеркивают глобальный масштаб проблемы [230].

На 2021 г. общая численность пациентов с СД в РФ, состоящих на диспансерном учете, по данным регистра, составила 4 799 552 (3,23% населения РФ), из них: СД1 – 5,5% (265,4 тыс.), СД2 – 92,5% (4,43 млн), другие типы СД – 2,0% (99,3 тыс.) пациентов с диабетом [18].

По мнению экспертов, в 2024 г. в России насчитывается от 10 до 12 млн больных сахарным диабетом – причем около половины из них не диагностированы [41]. Среди хронических осложнений сахарного диабета (СД) синдром диабетической стопы (СДС) занимает особое место, оказывая значительное влияние, как на качество жизни пациентов, так и на социально-экономические аспекты. Это осложнение не только угрожает сохранности конечности, но и существенно ухудшает общий прогноз для жизни пациента. Язвы при синдроме диабетической стопы развиваются у 15% пациентов с диабетом на протяжении их жизни. При этом инфекционные осложнения

поражают около 50% больных с диабетическими язвами, и из них 20% требуют госпитализации. Согласно оценкам экспертов, 15-20% госпитализированных пациентов в конечном итоге сталкиваются с необходимостью ампутации нижней конечности. Эти данные подчеркивают важность своевременной диагностики, профилактики и комплексного подхода к лечению СДС [86]. По данным Российского регистра частота ампутаций у больных СД составляет от 0,76 до 18,2 на 1000 больных, в среднем по стране – 6,4 на 1000 больных. По популяционным данным доля больших ампутаций среди них составляет 48–60%. Количество контралатеральных ампутаций через 3 года достигает 23%, через 5 лет – 28%. При комплексном лечении язвенного процесса необходимо отметить, что через 3 года в 30% случаев язва образуется повторно, а через 5 лет рецидив язвы – в 50% случаев.

Язвенные поражения стоп у пациентов с СД представляют собой одну из наиболее сложных и многофакторных медицинских проблем. В основе их развития лежат взаимодействие трех ключевых патологических компонентов: ишемия, нейропатия и инфекция. На основе этиологических факторов выделены формы СДС: нейропатическая, нейроишемическая и ишемическая [87]. В России хронической венозной недостаточностью нижних конечностей страдает 38 миллионов человек, причем 5 миллионов из них имеют трофические язвы [9,34]. В настоящее время научные исследования подтверждают наличие корреляции между СД 2 типа и ожирением, которое способствует развитию варикозной болезни и ХВН [64]. Эта взаимосвязь имеет важное клиническое значение, поскольку хроническая венозная недостаточность [54] сама по себе является одной из ключевых причин развития трофических язв нижних конечностей, составляя от 60 до 80% всех случаев трофических нарушений. Из всех микроорганизмов, выделяемых при СДС, наиболее частой грамположительной бактерией во всем мире является Staphylococcus aureus, а наиболее часто выделяемыми грамотрицательными бактериями - это виды Pseudomonas (spp.). За которыми следуют Escherichia coli, Proteus spp., Enterobacter spp. и Citrobacter spp. [147, 199]. Язвы СДС

обычно первоначально колонизируются грамположительными бактериями, такими как S. aureus (чувствительный к метициллину S. aureus илиустойчивый к метициллину S. aureus [MRSA]) и β-гемолитические стрептококки, такие как Streptococcus группы A (Streptococcus pyogenes), группа Streptococcus B (Streptococcus agalactiae) или стрептококки группы C или G. Когда язва становится хронической, она может содержать некротические ткани и колонизироваться грамотрицательными бактериями, такими как P. aeruginosa; Enterobacteriaceae, включая E. coli, Proteus spp. и Klebsiella spp. И анаэробными бактериями, такими как Bacteroides spp. и Clostridium spp. [163, 210]. При госпитализации и лечении антибиотиками широкого спектра микробный пейзаж флоры язвы может измениться, включая в него устойчивые к противомикробным препаратам патогены, такие как MRSA, устойчивый к ванкомицину энтерококк и грамотрицательные бактерии, которые продуцируют ферменты β-лактамазы или карбапенемазы расширенного спектра [136, 140, 213]. Исследования, посвященные изучению инфекций СДС, вызванных полирезистентными микроорганизмами, указывают на более высокий риск ампутаций и летальности [20, 85, 103, 124]. Так, работа C. Tascinietal. продемонстрировала, что колонизация Klebsiella spp., продуцирующей карбапенемазы, является значительным фактором риска смертности среди пациентов с инфекциями СДС [213]. Кроме того, метициллин-резистентный Staphylococcus aureus (MRSA) ассоциирован с увеличением частоты повторных госпитализаций, а присутствие Acinetobacter spp. и Klebsiella spp. В инфицированных язвах связано с более высокой вероятностью высоких ампутаций [93]. Таким образом, активный мониторинг распространенности микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью играет ключевую роль в обеспечении эффективного лечения инфекций СДС и формирует острую необходимость в разработке новых лечебных подхолов на фоне снижения эффективности антимикробных препаратов.

Применение физических методов лечения является альтернативным направлением борьбы с патогенными микроорганизмами, грибами и биопленками. В настоящее время к таким методам, с выраженным бактерицидным действием, относится низкотемпературная аргоновая плазма. Плазменный поток включает электроны, ионы, свободные радикалы и возбужденные молекулы, а также ультрафиолетовое излучение. Антимикробный эффект плазмы обусловлен синергическим действием реакционноспособных частиц и ультрафиолета, которые вызывают окислительный стресс и повреждение ДНК [112]. Бактерицидный эффект был обнаружен при воздействии плазмы на различные острые и хронические гнойные раны, на загрязненные срезы дентина. Ее неспецифический и проникающий способ действия позволяет рассмотреть возможность применения НТАП для снижения микробной обсеменённости тканей и купирования воспаления в области раны. НТАП обладает рядом принципиальных преимуществ, к которым относятся высокая неспецифическая бактерицидная активность, низкая вероятность появления устойчивых форм, отсутствие ионизирующих излучений и высокотоксичных веществ. Эти преимущества вместе с относительной простотой и дешевизной методики делают НТАП перспективным методом лечения острых и хронических ран.

На современном этапе развития медицины используются многокомпонентные препараты, в том числе с антигипоксическими и антиоксидантными свойствами. В этой связи интерес представляет препарат «цитофлавин», использование которого в клинической практике весьма перспективно [40]. Современные представления о течении патологического процесса при СДС дают основания для применения этого препарата при данной патологии. Возможность применения современных малоинвазивных хирургических стратегий по устранению вертикального рефлюкса венозного компонента при СДС, развития и более широкого внедрения таргетной бактериофаготерапии, рационализации фармакотерапии определили необходимость проведения данного исследования и поиска более эффективных

методов лечения СДС.

Степень разработанности темы исследования

Анализ исследований по проблеме лечения полирезистентных инфекций у пациентов с синдромом диабетической стопы выявил ряд существенных методологических и концептуальных ограничений. Прежде всего, большинство крупных международных исследований, основаны на данных, полученных преимущественно в западных странах, что не отражает специфики антибиотикорезистентности в российских условиях, где практика назначения антибактериальных препаратов имеет существенные отличия. Особенно заметен дефицит проспективных исследований, посвященных комплексной оценке региональных особенностей микробного пейзажа и профиля резистентности при СДС.

Существенной проблемой является недостаточная доказательная база по альтернативным методам лечения. Исследования по бактериофаготерапии носят преимущественно описательный характер и основаны на небольших клинических сериях. Имеющиеся работы по изучению низкотемпературной аргоновой плазменной терапии ограничены экспериментальными моделями и небольшими клиническими выборками.

Серьезным концептуальным недостатком многих исследований является узкий фокус на инфекционный процесс без должного учета другх факторов патогенеза СДС. Работы часто концентрируются исключительно на микробиологических аспектах, игнорируя важность комплексного подхода, учитывающего хроническую венозную недостаточность, оксидативный стресс и метаболические нарушения, которые играют ключевую роль в патогенезе заболевания.

Отдельной проблемой является отсутствие исследований, посвященных комплексным подходам к лечению. Подавляющее большинство работ фокусируется на оценке эффективности отдельных методов (антибиотиков, или местных перевязочных средств), не рассматривая их потенциальные синергетические эффекты. Практически отсутствуют данные о сочетании

антимикробной терапии с методами коррекции гемодинамических нарушений (такими как ЭВЛК) и метаболической поддержки (например, цитофлавином).

К существенным методологическим недостаткам можно отнести малый объем выборок в исследованиях инновационных методов (часто менее 30 пациентов), отсутствие адекватного контроля сопутствующей терапии, что значительно затрудняет интерпретацию полученных результатов, а также преобладание ретроспективных исследований над проспективными. Кроме того, практически не изучаются экономические аспекты применения альтернативных методов лечения, хотя именно cost-effectiveness анализ мог бы существенно повлиять на внедрение новых технологий в клиническую практику.

Эти методологические ограничения существующих исследований определяют актуальность проведения новой работы, направленной на преодоление выявленных недостатков. Настоящее исследование призвано восполнить существующие пробелы за счет комплексного подхода, включающего изучение региональных особенностей антибиотикорезистентности, оценку комбинации инновационных методов лечения (бактериофагов, плазменной терапии и гемодинамической коррекции), длительный период наблюдения (не менее 12 месяцев). Такой подход позволит получить актуальные данные, имеющие не только научную, но и практическую значимость для совершенствования лечения пациентов СДС, осоложненного полирезистентными инфекциями.

Критическим пробелом в существующих исследованиях является недостаточная разработанность организационно-методических аспектов оказания медицинской помощи пациентам с СДС и полирезистентной инфекцией. Подавляющее большинство работ рассматривает клинические вмешательства изолированно, не анализируя системные дефекты организации медицинской помощи на догоспитальном, госпитальном и послегоспитальном этапах. Практически отсутствуют исследования, посвященные изучению влияния медико-социальных детерминант (трудовая занятость, уровень

образования, социальная изоляция) на формирование полирезистентной инфекции и исходы лечения. Между тем, именно социальные факторы определяют приверженность пациентов к лечению, доступность специализированной помощи и качество самоконтроля.

Особую проблему представляет отсутствие научно обоснованных моделей дифференцированной маршрутизации пациентов в зависимости от сочетания клинических, метаболических, инфекционных и медико-социальных факторов риска.

Таким образом, несмотря на значительный прогресс в изучении СДС, проблема полирезистентной раневой инфекции продолжает оставаться нерешенной. Современные исследования убедительно демонстрируют необходимость разработки новых антимикробных стратегий (включая фаготерапию и плазменные технологии), создания индивидуализированных схем лечения с учетом микробиологического профиля, а также внедрения комплексных подходов, предусматривающих коррекцию сопутствующих нарушений, таких как венозная недостаточность и оксидативный стресс, разработку организационно-методических аспектов оказания медицинской помощи пациентам с СДС и полирезистентной инфекцией. Проводимое исследование направлено на восполнение этих актуальных пробелов и полностью соответствует современным требованиям доказательной медицины, что подчеркивает его научную новизну и практическую значимость.

Цель исследования

Разработка и научное обоснование системной модели комплексного лечения гнойных осложнений синдрома диабетической стопы, обусловленных полирезистентной инфекцией, основанной на интеграции современных антимикробных, физических и хирургических методов лечения с созданием организационно-методической системы преемственности медицинской помощи на догоспитальном, госпитальном и послегоспитальном этапах, направленной на улучшение результатов лечения.

Задачи исследования

1. Изучить видовой состав и структуру микробного пейзажа инфекционных осложнений синдрома диабетической стопы и охарактеризовать основные генетические маркеры антибиотикорезистентности, установить факторы риска развития полирезистентной раневой инфекции у больных с синдромом диабетической стопы.

2. Разработать и оценить клиническую и микробиологическую эффективность персонализированного подхода к бактериофаготерапии в составе комплексного лечения полирезистентной раневой инфекции у пациентов с синдромом диабетической стопы с учётом ограничений метода (лизогенный эффект, отсутствие чувствительных фагов).

3. Научно обосновать оптимальные режимы применения низкотемпературной аргоновой плазмы в комплексном лечении инфицированных диабетических ран/язв на основе изучения её антимикробного действия на клинические штаммы ESKAPE-патогенов in vitro, влияния на пролиферацию фибробластов и репаративные процессы in vitro, а также клинической эффективности при лечении пациентов с СДС и полирезистентной инфекцией.

4. Изучить патогенетическую роль венозной дисфункции в развитии гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы, обусловленных полирезистентной инфекцией, оценить эффективность её коррекции эндовенозной лазерной коагуляции в сочетании с метаболической терапией цитофлавином на основании динамики показателей венозной гемодинамики, оксидативного стресса, микробной обсеменённости и динамики раневого процесса.

5. Разработать алгоритм комплексного хирургического лечения полирезистентной раневой инфекции у больных с синдромом диабетической стопы, интегрирующий антимикробную деконтаминацию, коррекцию венозного кровотока и метаболическую поддержку и оценить его клиническую эффективность по частоте органосохраняющих вмешательств, срокам

подготовки к восстановительным операциям и ближайшим результатам лечения.

6. Оценить отдалённые результаты комбинированного лечения пациентов с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной раневой инфекцией с применением эндовенозной лазерной коагуляции и метаболической терапии цитофлавином по динамике клинических проявлений хронической венозной недостаточности, показателей венозной гемодинамики, прооксидантно-антиоксидантного статуса, гликемического контроля и частоте рецидивов трофических язв в течение года наблюдения.

7. Разработать организационно-методические модели взаимодействия между догоспитальным, госпитальным и послегоспитальным этапами медицинской помощи, направленные на обеспечение преемственности лечения пациентов с синдромом диабетической стопы и полирезистентной инфекцией, а также снижение частоты рецидивов и ампутаций.

Научная новизна исследования

Впервые разработана и клинически апробирована системная модель комплексного хирургического лечения пациентов с нейропатической формой синдрома диабетической стопы, осложнённой полирезистентной раневой инфекцией, ключевой особенностью которой является сквозной характер, обеспечивающий преемственность лечебно-диагностического процесса на всех этапах – от первичного амбулаторного скрининга до стационарного лечения и послегоспитального наблюдения.

Впервые на основании комплексного изучения видового состава микрофлоры, генетических детерминант антибиотикорезистентности и факторов риска формирования полирезистентной инфекции обоснован переход от эмпирической антимикробной терапии к персонализированным таргетным стратегиям, включающим бактериофаготерапию и низкотемпературную аргоновую плазму. Персонализированный подбор бактериофагов обеспечивает снижение микробной обсеменённости и полную эрадикацию возбудителей у 68% больных. Бактерицидный режим низкотемпературной аргоновой плазмы

(10 см, 15 секунд) обеспечивает эффективность эрадикации 99,99–100% госпитальных полирезистентных штаммов, а репаративный режим (25 см, 15 секунд) стимулирует пролиферацию фибробластов, что в комплексе обусловливает ускоренное очищение ран, купирование воспаления и активацию репаративной регенерации.

Впервые обоснована патогенетическая значимость нарушений венозной гемодинамики в поддержании хронического течения раневого процесса и доказано, что коррекция гемодинамически значимой венозной недостаточности методом эндовенозной лазерной коагуляции в сочетании с метаболической терапией цитофлавином обеспечивает синергический эффект: восстановление венозного оттока, потенцирует эрадикацию полирезистентной микрофлор, компенсацию оксидативного стресса.

Впервые разработан и клинически обоснован комплексный алгоритм органосохраняющего хирургического лечения, применение которого сопровождается статистически значимым изменением структуры первичных хирургических вмешательств в пользу органосохраняющих резекций, снижением суммарной частоты ампутаций, потребности в повторных хирургических вмешательствах, увеличением доли ранних восстановительных вмешательств и сокращением продолжительности госпитализации (на 21,0%; $p<0,001$).

Реализация разработанного комплексного подхода обеспечивает устойчивое улучшение отдалённых результатов: снижение кумулятивной частоты рецидивов к концу года наблюдения ($p=0,001$), и увеличением доли пациентов с безрецидивным течением ($p<0,001$).

Впервые научно обоснована организационно-методическая модель преемственного оказания медицинской помощи, учитывающая совокупность клинических, инфекционных, метаболических и медико-социальных факторов риска. На этой основе разработана дифференцированная трёхуровневая маршрутизация пациентов, предусматривающая мультидисциплинарное взаимодействие, персональное сопровождение пациентов с неблагоприятным

медико-социальным профилем и проактивное послегоспитальное наблюдение, обеспечивающие более чем двукратное снижение частоты рецидивов по сравнению со стандартной тактикой.

Научная новизна исследования определяется не только разработкой отдельных лечебных технологий, но и их объединением в единую клинико-организационную систему, обеспечивающую персонализацию лечения на всех этапах оказания помощи – от микробиологической верификации и выбора антимикробной стратегии до коррекции венозных и метаболических нарушений, органосохраняющего хирургического лечения и профилактики рецидивов, что позволило перейти от преимущественно реактивной тактики ведения пациентов с осложнённым СДС к дифференцированной системе лечения и наблюдения, ориентированной на сохранение конечности, снижение повторных вмешательств и предупреждение рецидивирования заболевания.

Практическая значимость работы

Практическая значимость исследования определяется формированием и клинической апробацией целостной системной модели помощи пациентам с нейропатической формой синдрома диабетической стопы, осложнённой полирезистентной раневой инфекцией, обеспечивающей переход от реактивной хирургической тактики к проактивному устранению полирезистентной инфекции и управлению раневым процессом на всех этапах оказания медицинской помощи.

Разработан комплексный алгоритм лечения, интегрирующий персонализированную антимикробную деконтаминацию (бактериофаготерапию с учетом чувствительности и дифференцированные режимы низкотемпературной аргоновой плазмы), коррекцию венозного стаза (ЭВЛК) и метаболическую поддержку (цитофлавин). Практическая ценность алгоритма заключается в создании условий для перехода к органосохраняющей хирургии.

На основе выявленных медико-социальных детерминант создана организационно-методическая модель преемственной помощи, базирующаяся на дифференцированной трёхуровневой маршрутизации. Внедрение

проактивного послегоспитального мониторинга позволяет трансформировать эпизодическое наблюдение в непрерывную систему вторичной профилактики, что обеспечивает значимое снижение частоты рецидивов трофических язв и повторных госпитализаций.

Результаты исследования формируют научно-обоснованную базу для актуализации федеральных клинических рекомендаций по ведению пациентов с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной раневой инфекцией. Методологические подходы и клинические данные диссертации могут быть использованы в системе последипломного образования хирургов, эндокринологов, инфекционистов и специалистов организационно-методического профиля.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Полирезистентная рецидивирующая раневая инфекция при синдроме диабетической стопы характеризуется полимикробным спектром с доминированием резистентных грамположительных (Staphylococcus aureus) и грамотрицательных микроорганизмов (Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii), обладающих множественной фенотипической и генетически обусловленной устойчивостью к антибактериальным препаратам. Ведущими независимыми факторами риска её формирования являются рецидивирующее течение язвенного процесса, отсутствие специализированного наблюдения, предшествующая нерациональная антибиотикотерапия и длительный язвенный анамнез. Это обосновывает необходимость персонализированного подхода к антибактериальной терапии и разработки новых стратегий лечения, направленных на преодоление антибиотикорезистентности.

2. Персонализированная антимикробная деконтаминация, интегрирующая бактериофаготерапию и низкотемпературную аргоновую плазму, обеспечивает преодоление полирезистентности возбудителей при синдроме диабетической стопы.

Персонализированная бактериофаготерапия (с эффективностью подбора фагов в 73% случаев и достижением полной эрадикации возбудителя у 68% пациентов).

3. Экспериментально и клинически обоснованы дифференцированные режимы низкотемпературной аргоновой плазмы: бактерицидный (10 см, 15 секунд; эффективность эрадикации 99,99–100%) и репаративный (25 см, 15 секунд) и сопровождается статистически значимым снижением воспалительных маркеров и активацией репаративных процессов.

4. Коррекция гемодинамически значимой венозной недостаточности методом эндовенозной лазерной коагуляции в сочетании с метаболической модуляцией цитофлавином обеспечивает синергический терапевтический эффект при нейропатической форме синдрома диабетической стопы и полирезистентной инфекции. Устранение патологического венозного рефлюкса не только восстанавливает магистральный венозный отток, но и за счёт улучшения микроциркуляции способствует эрадикации полирезистентной микрофлоры и купированию системного воспаления. Дополнительное включение цитофлавина компенсирует тканевый оксидативный стресс (снижение МДА в 2,07 раза), что в совокупности ускоряет переход раневого процесса в фазу репарации.

5. Разработаный алгоритм комплексного хирургического лечения гнойных осложнений при синдроме диабетической стопы, интегрирующий антимикробную деконтаминацию (таргетную фаготерапию, низкотемпературную аргоновую плазму), коррекцию венозного кровотока и метаболическую поддержку обеспечивает переход к органосохраняющей хирургической стратегии.

Алгоритм комплексного хирургического лечения обеспечивает выполнение реконструктивных вмешательств в более раннем периоде. Это сопровождается сокращением продолжительности госпитализации на 21,0% ($p<0,001$).

6. Разработанный алгоритм комбинированного лечения больных с синдромом диабетической стопы и полирезистентной инфекцией обеспечивает статистически значимое улучшение отдалённых результатов по сравнению со стандартной терапией.

7. Разработана и научно обоснована организационно-методическая модель преемственной медицинской помощи пациентам с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной раневой инфекцией, основанная на дифференцированной трёхуровневой маршрутизации с учётом клинических и медико-социальных факторов риска, мультидисциплинарном взаимодействии, персональном сопровождении социально дезадаптированных пациентов и проактивном послегоспитальном мониторинге.

Предложенный системный подход, сочетающий клинические инновации и оптимизированную организацию, повышает эффективность лечения и демонстрирует экономическую целесообразность.

Апробация диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: IV Международном конгрессе «Раны и раневые инфекции с конференцией проблемы анестезии и интенсивной терапии раневых инфекций», посвященного 45-летию ран и раневых инфекций, 30-летию памяти жертв землетрясения в Спитаке (Армения, 1988) (Москва, 2018), 49, 50 и 51 научно-практической конференции Филиала №1 ФГБУ «3 ЦВКГ им. А.А. Вишневского Минобороны России (Красногорск, 2017, 2018, 2019), Всероссийском конкурсе научно-исследовательских работ в интересах Вооруженных Сил Российской Федерации по теме: «Инновационные технологии в медицине» (Кубинка, 2021), «I, II, III Вишневских чтениях» (Москва, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025), Научно-практической конференции «Джанелидзевские чтения-2023» в рамках Конгресса Межрегиональной Ассоциации по неотложной хирургии (Санкт-Петербург, 2023) Всероссийском Междисциплинарном Конгрессе «Современная медицина – новые реалии в меняющемся мире» (Москва, 2023), в рамках Научно-деловой программы

Международного военно-морского салона «Проблема хирургической инфекции и пути ее решения» (Кронштадт, 2023), в рамках Научно-деловой программы военно-технического форума «АРМИЯ-2023» по тематике Медицина «Хирургическая инфекция и сепсис: проблемы и пути их решения в условиях проведения СВО» (Кубинка, 2023), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Ожоги: диагностика, лечение, реабилитация» (Махачкала, 2023), Круглом столе в рамках Военно-Морского Салона г. Кронштадт (2024), XI Санкт-Петербургском септическом форуме НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе (Санкт-Петербург, 2024), Конгрессе с международным участием «Контроль и профилактика инфекций, связанныхс оказанием медицинской помощи» (Москва, 2024), Научно-практической конференции XIII конгресса ТП «ФОТОНИКА», (Москва, Экспоцентр, 2025), Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием конференция «Современные технологии лечения повреждений мягких тканей и костных структур различного генеза», Центр Сириус, Сочи, VI Международной научно-практической конференции по вопросам противодействия инфекционным заболеваниям: новые вызовы, г. Санкт-Петербург.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 35 научных работ, из них – 27 статей в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, зарегистрированы в Роспатенте и получены 2 патента на изобретения.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 360 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, 9 глав, отражающих результаты собственных исследований и их обсуждение, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 236 источников, из которых 172 – на иностранных языках. Работа иллюстрирована 78 таблицами, 64 рисунками и 5 микрофотографиями.

Личный вклад автора

Идентификация публикаций специалистов по теме исследования, обработка их содержания и подготовка аналитического обзора собранной информации; составление программы исследования и его дизайна; разработка карты обработки данных, содержащихся в медицинских документах со стандартным набором анализируемых параметров; сбор базы данных и многокомпонентный их анализ; непосредственное участие в обследовании и, в том числе, оперативном лечении пациентов, включенных в группы исследования; статистическая обработка результатов исследования.

Внедрение

На основании проведенных исследований зарегистрированы 2 патента на изобретения в Роспатенте «Способ многокомпонентной терапии при синдроме диабетической стопы» RU №2012133080 от 01.08.2012 г. и «Способ комбинированного лечения трофических язв с мультирезистентной микрофлорой при синдроме диабетической стопы» RU 2021113593 от 02.11.2022 г. Полученные данные используются в учебном процессе на кафедрах неотложной хирургии с курсом онкологии (акт внедрения №7 от 28.09.2023 г.) филиала ФГОУ ВПО «ВМедА им. С.М. Кирова» (г. Москва) при обучении студентов, интернов, ординаторов, а также в практике работы хирургических отделений и консультативно-диагностического центра ФГБУ «НМИЦ ВМТ им. А.А. Вишневского» Минобороны России (акт внедрения №12 от 20.09.2023 г.).

Благодарность

Отдельную благодарность и признательность хотелось бы выразить начальнику ФГБУ «НМИЦ ВМТ им. А.А. Вишневского» Минобороны России, генерал-майору медицинской службы, профессору, доктору медицинских наук Есипову Александру Владимировичу, профессору, доктору медицинских наук Алехновичу Александру Владимировичу, профессору, доктору медицинских наук Земляному Александру Борисовичу, моей супруге Маркевич Ларисе Борисовне и всем коллегам и друзьям за помощь в работе.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Этиопатогенез синдрома диабетической стопы

По данным Международной диабетической федерации (IDF), численность больных СД в мире за последние 10 лет увеличилась более чем в 2 раза, и к концу 2021 года превысила 537 млн человек. Согласно прогнозам, IDF к 2030 году СД будет страдать 643 млн человек, а к 2045 году – 783 млн человек.

По данным Федерального регистра СД в РФ на 01.01.2023 г. состояло на диспансерном учете 4 962 762 человека (3,42% населения), из них: 92,3% (4 581 990) – СД 2 типа, 5,6% (277 092) – СД 1 типа и 2,1% (103 680) – другие типы СД, в том числе 8 758 женщин с гестационным СД.

Однако эти данные недооценивают реальное количество пациентов, поскольку учитывают только выявленные и зарегистрированные случаи заболевания. Так, результаты масштабного российского эпидемиологического исследования (NATION) показали, что 54% случаев СД 2 типа не было диагностировано. Таким образом, реальная численность пациентов с СД в РФ не менее 11-12 млн человек (около 7% населения), что представляет чрезвычайную угрозу для долгосрочной перспективы, поскольку значительная часть пациентов остается не диагностированными, а, следовательно, не получают лечения и имеют высокий риск развития осложнений [18].

При этом распространенность СД в РФ стабильно растёт: на 236 325 тыс. пациентов по сравнению с 2022 годом.

По оценкам IDF во всем мире не менее 232 млн. человек или половина (50,0%) всех людей в возрасте от 20-79 лет с этим заболеванием, не подозревают о том, что у них СД [1,19]. Россия занимает двенадцатое место в мире по количеству диабетиков – 7,392 миллиона больных 2023 г., и, по прогнозам, к 2030 году число больных может составить 15 242 тысяч.

Синдром диабетической стопы (СДС) определяется как инфекция, язва и/или деструкция глубоких тканей, связанная с неврологическими нарушениями и/или снижением магистрального кровотока в артериях нижних

конечностей различной степени тяжести [214]. Основной причиной образования язв на стопе при сахарном диабете являются нейропатия, ишемия и инфекция.

В США ежегодно на 1 млн жителей выполняется 280-300 высоких мпутаций нижних конечностей. В Европе этот показатель составляет 250 операций на миллион жителей, в Японии – 210, а в России – 500 случаев. При этом около 70-80% пациентов сообщают о наличии у них фантомно-болевого синдрома после ампутации, достигающего частоты в 59% через 2 года после операции [5]. В России, согласно данным Государственного регистра, высокие ампутации выполняются в среднем у 6 на 1000 больных с СД. Анализ литературы показал, что у 20% больных с критической ишемией нижних конечностей на фоне СДС выполняется первичная ампутация на уровне бедра, а распространенность ишемии среди больных с СД 2-го типа до 4 раз выше, чем в общей популяции [3].

В течение первых 5 лет после высокой ампутации погибает около 80% больных. В структуре по возрасту преобладает категория в возрасте 60-69 лет – 36,9%. Сахарный диабет 1-го типа диагностируется у 5,8% инвалидов, а 2-го типа – у 94,2% пациентов [4]. Летальность пациентов с СД при гангрене стопы составляет 20-30%, частота развития последней варьирует от 7 до 11% [46].

Пациенты, подвергшиеся ампутации конечности, составляют группу риска в отношении потери второй (контралатеральной) конечности. Кроме того, серьезной проблемой являются рецидивы язвенных и гнойно-некротических поражений после первичного хирургического лечения. При рецидивах язвенных и гнойно-некротических поражений высокие ампутации выполняются в 91,7% случаев, а летальность достигает 45% [30].

Каждый час в мире происходит 55 ампутаций нижних конечностей у больных сахарным диабетом. Несмотря на значительные мировые достижения в области изучения патогенеза сахарного диабета и его осложнений, количество ампутаций ног при диабете растет. Впервые возникший язвенный дефект на стопе, как правило, переходит в рецидивирующий [16].

Существует «правило пятнадцати»: у 15% больных сахарным диабетом возникают язвенно-некротические процессы, из них у 15% развивается остеомиелит, из их числа у 15% в свою очередь, оказывается необходимой ампутация [43].

Факторы риска развития СДС

По мнению ведущих специалистов, [222] выделяют следующие факторы риска развития СДС: периферическая сенсомоторная и автономная нейропатия; хроническая артериальная недостаточность нижних конечностей; деформации стоп; предшествующие язвы и/или ампутации; травма; неправильно подобранная обувь; социально–психологические факторы; расовая принадлежность.

Факторы, предрасполагающие к язвообразованию у больных диабетом [149], представлены в таблице 1.1

Таблица 1.1

п/п	Факторы, снижающие сопротивляемость тканей травме	Факторы, увеличивающие вероятность травмы
1.	патология крупных сосудов: атеросклероз, варикозная болезнь	моторная нейропатия
2.	патология мелких сосудов	сенсорная нейропатия
3.	автономная нейропатия	ограничение подвижности суставов
4.	Курение	нарушение остроты зрения
5.		шаткость походки, малоподвижность

Учитывая факторы риска, в настоящее время определены 8 групп риска пациентов, страдающих СДС:

1) пациенты с дистальной полинейропатией;
2) лица с заболеваниями периферических артерий любого генеза;
3) больные с деформациями стоп любого генеза;
4) слепые и слабовидящие;
5) больные с диабетической нефропатией и ХБП С3-5;
6) одинокие и пожилые пациенты;
7) лица, злоупотребляющие алкоголем;
8) курильщики.

Ведущими факторами риска СДС являются диабетическая нейропатия, заболеваниями периферических артерий и деформацией стопы. Эти факторы можно далее разделить на различные степени в зависимости от тяжести [218].

Диабетическая полинейропатия (ДПН)

Нейропатия, вызванная сахарным диабетом, представляет собой симметричную полинейропатию, которая в различной степени поражает сенсорные, двигательные и вегетативные компоненты периферических нервов [216]. Эпидемиологические данные показывают, что нейропатия является причиной 16%-66% случаев синдрома диабетической стопы [198], а пациенты с нейропатией склонны к рецидиву после заживления, что в конечном итоге приводит к ампутации нижних конечностей [116]. ДПН приводит к потере защитной чувствительности, обычно начинающейся симметрично и по типу носка. Мелкие и немиелинизированные нервные волокна, ответственные за проведение афферентного сенсорного восприятия, такие как волокна С-типа, повреждаются в первую очередь, что приводит к повреждению тканей из-за плохого восприятия травмы и/или механического стресса. Таким образом, относительно незначительные повреждения будут продолжать накапливаться и приводить к постепенному ухудшению состояния раны с трудностями в заживлении [102].

Моторная нейропатия вызывает атрофию мышц стопы путем денервации определенных групп мышц, которые напрямую влияют на функцию стопы. Поскольку мелкие мышцы стопы, такие как короткий разгибатель пальцев, червеобразные и межкостные мышцы, постепенно парализуются, анатомия свода стопы изменяется, а плюснефаланговые суставы (MTPJ) становятся переразогнутыми или пересокращенными [90]. Суставы остаются подвижным и на начальной стадии, но по мере прогрессирования заболевания межфаланговые суставы демонстрируют сгибание и неправильное положение, что приводит к деформации стопы [110]. Клинически моторная нейропатия часто проявляется сенсорными нарушениями. Сочетание двигательной и сенсорной нейропатии приводит к неравномерной нагрузке на стопу и

неуверенной походке с потерей болевой чувствительности, а деформированные суставы и подошвенная поверхность, подвергающаяся чрезмерной нагрузке, постоянно изнашиваются и со временем в них развивается гиперкератоз, способствующий образованию язв [70].

Считается, что дисфункция автономной системы ответственна за патогенез язвы. Дисфункция потоотделения, вызванная автономной нейропатией, вызывает перегрев кожи за счет увеличения более глубокой перфузии крови, что приводит к ангидрозу и трещинам кожи, а также нарушению дермального барьера и снижению эффективности кожи как барьера против микробного вторжения [218]. Более того, повышенное гликирование кератина усугубляет язвы, заставляя кожу утолщаться и сдавливать мягкие ткани, которые она покрывает [97].

Заболевание периферических артерий (ЗПА)

Заболевание периферических артерий – это клинический термин, который классически используется для обобщения различных заболеваний, которые поражают некардиальные и неинтракраниальные артерии и приводят к полной или частичной окклюзии периферических артерий верхних и/или нижних конечностей, что приводит к ишемии тканей и недостаточности кровоснабжения [184]. ЗПА – еще один не менее важный фактор, способствующий нейропатии при возникновении язв на ногах и ампутации [211]. Частота ампутаций нижних конечностей у пациентов с ЗПА выше, чем у тех, у кого их нет, что может быть связано с патогенетической обусловленностью влияния СД на формирование дистального поражения артерий, поскольку артерии нижних конечностей, особенно дистальные артерии, такие как артерия тыла стопы, в основном вовлечены в СДС [175]. Среди пациентов с СД и ЗПА, характеризующихся окклюзией артерий нижних конечностей, у трети пациентов будет наблюдаться перемежающаяся хромота, описываемая как боль, судороги и/или онемение пораженной конечности, возникающие при физических нагрузках и в состоянии покоя [141]. Длительная перемежающаяся хромота вызывает прогрессирующую дисфункцию и

инвалидность, а в сочетании с нарушенной вазодилатационной реакцией на подошвенное давление может привести к критической ишемии конечности, что приведет к ишемической язве стопы и ампутации [221].

Деформации стопы

Наряду с нейропатией и травмой деформация стопы была повторно подтверждена Группой по уходу за стопами Американской диабетической ассоциации как наиболее распространенная триада причин, которые взаимодействуют и в конечном итоге приводят к язве СДС [99].

Распространенные структурные деформации стопы включают деформацию межфаланговых суставов, деформацию плюснефаланговых суставов, полую стопу и эквинусную стопу [67]. Наиболее распространенной деформацией у пациентов с сахарным диабетом является изменения плюснефаланговых суставов, включая молоткообразную и когтеобразную деформацию пальцев, характеризующиеся переразгибанием межфаланговых суставов, и вальгусную деформацию первого пальца стопы, характеризующуюся наклоном наружу первого плюснефалангового сустава [99].

В настоящее время специфический ход развития деформаций стопы у пациентов с СД не ясен. Общепринятый патогенез связан с атрофией мышц, снижением подвижности суставов и неравномерной силой на подошве в результате двигательной нейропатии [67]. У пациентов с СД разрушаются опорно-двигательные компоненты, что выражается в атрофии внутренних и внешних мышц стопы и жировой инфильтрации [133, 134]. Атрофия мелких мышц, таких как короткий разгибатель пальцев и/или межкостные мышцы, напрямую влияет на стабильность суставов и функцию стопы, разрушая структуру суставов и приводя к переразгибанию плюснефаланговых суставов и гиперсгибанию межфаланговых суставов [100]. Более того, из-за избыточного давления подвижность суставов постепенно снижается, что еще больше усугубляет давление на костные выступы, особенно на головку плюсневой кости [209]. Постоянное воздействие повторяющегося и чрезмерного давления

вызывает деформацию головки плюсневой кости, а давление, превышающее пороговое значение, может привести к длительной ишемии, в результате чего кожа под ней ослабевает и разрушается [171, 176]. Между тем, восстановление кровоснабжения после ишемии, вызванной изменениями давления, может привести к реперфузионному повреждению.

Эти циклы ишемии-реперфузии могут вызвать чрезмерную воспалительную реакцию, еще больше усугубляя повреждение тканей, что считается еще одной причиной пролежней.

Другие факторы также способствуют образованию язв за счет увеличения подошвенного давления.

Гиперкератоз относится к утолщению мозолей, вызванному постоянным увеличением подошвенного давления, и является решающим фактором, который всегда предшествует образованию язв.

Утолщение мозолей часто регистрируется в подошвенной области головок плюсневых костей, пятки и середины большого пальца. После образования оно добавляет легкое, но постоянное давление на подлежащие мягкие ткани и в сочетании с другими факторами приводит к образованию и разрыву язв. Другим распространенным фактором являются патологические изменения в сухожилиях, такие как увеличенный размер ахиллова сухожилия и аномальная структура сухожилия. Утолщенные фасции и сухожилия ограничивают активность суставов и ослабляют тыльное сгибание голеностопного сустава, также ускоряя образование язв.

Классификация синдрома диабетической стопы

В 1991 году состоялся I Международный симпозиум по синдрому диабетической стопы, где была выработана классификация этого заболевания с учетом преобладающего поражения. Она была принята за основу мировым медицинским сообществом.

Согласно этой классификации, выделяют следующие виды диабетической стопы:

1) нейропатическая стопа, при которой преобладают нарушения иннервации;
2) ишемическая стопа, преобладают нарушения со стороны макрососудистого русла;
3) нейро-ишемическая стопа, сочетающая в себе признаки первой и второй форм.

Наиболее часто встречается нейропатическая стопа, на втором месте по частоте – смешанная форма, ишемическая стопа является наиболее редким проявлением синдрома диабетической стопы. В зависимости от вида определяется подход к лечению диабетической стопы и прогноз заболевания.

Классификация Meggit-Wagner: это система, описанная Meggit в 1976 году и распространенная Wagner (F.Wagner, 1981) в 1979 году, была наиболее широко используемой системой [92, 182, 223]. Эта система, которая по сути основана на ранах, интуитивно понятна и проста в использовании, но поскольку она не учитывает клинические параметры, такие как периферическая невропатия и поражение артерий, она не может различать инфекцию и ишемические поражения, что также связано с ее признанной неточностью и ограничениями [74]. Это шестиступенчатая система классификации, в основном охватывающая глубину язвы и степень некроза тканей [224]:

0 степень – предъязвенное поражение, наличие костной деформации;

I степень – поверхностная язва без вовлечения подкожных структур;

II степень – язва распространяется на глубжележащие ткани, в ране возможно наличие сухожилий, костей, суставов;

III степень – абсцессы глубоких тканей, остеомиелит;

IV степень – гангрена дистальной части стопы, ограниченная гангрена (пальца или части стопы);

V степень – распространенная гангрена стопы.

В настоящее время существует множество различных классификаций синдрома диабетической стопы. Ниже представлены некоторые из них: клиническая классификация СДС, по степени ишемии применяют

модифицированную классификацию по I. Fontaine (1954) и А.В. Покровскому (1978), по уровню транскутанного напряжения кислорода, классификация PEDIS язвенных дефектов у больных с СДС, клинико-рентгенологическая классификация диабетической остеоартропатии [146].

В 1999 г. W.J. Jeffcoat, R.M. Macfarlane, K. Treece (Великобритания) предложили новую систему классификации диабетических язв S(AD)SAD, основанную на пяти основных клинических признаках: объем – size (область и глубина), сепсис (sepsis), артериопатия и денервация. в основном предназначена для клинических аудитов [148]. Преимущество этой классификации заключается в ее способности обеспечивать оценку язв без необходимости использования профессиональных технологий и оборудования для проведения тестов, что облегчает ее применение в клинике. Однако из-за множественных описаний язв система сложна для запоминания операторами, что может быть причиной того, что система S(AD)SAD считается более подходящей для аудита, в то время как система UT используется для клинического описания и обмена данными между врачами [66, 148].

Система локализации, ишемии, нейропатии, бактериальной инфекции, площади, глубины: упрощенная и улучшенная форма системы S(AD)SAD, система локализации, ишемии, нейропатии, бактериальной инфекции, площади, глубины (SINBAD), была предложена для уменьшения трудностей в клиническом использовании, вызванных включением более сложных критериев, при сохранении описаний характеристик язвы в максимально возможной степени [66,125]. Система SINBAD по-прежнему содержит пять элементов (площадь, глубина, инфекция, ишемия и нейропатия) и оценивает каждый элемент либо как 0, либо как 1 балл для создания системы оценки с баллами от 0 до 6 для описания возрастающей тяжести [65]. Модифицированная система проста, достаточно надежна и позволяет собирать необходимую информацию без специального оборудования, за исключением обычных клинических обследований [183]. Было доказано, что она имеет умеренную межисследовательскую и отличную внутриисследовательскую

воспроизводимость и может помочь точно описать прогрессирование язв, включая заживление и необходимость ампутации, что подтверждается тем фактом, что IWGDF рекомендует систему SINBAD [75].

Из-за растущей распространенности нейроишемических язв дихотомия ишемии в существующих системах не имеет эффективной градации тяжести и не может соответствовать клиническим требованиям. В 2014 году система ран, ишемии и инфекции стопы (WIFI) была предложена Комитетом по рекомендациям Общества сосудистой хирургии нижних конечностей, и она охватывала три наиболее важных фактора риска, которые могут привести к ампутации нижних конечностей: WIFI. Трем факторам присваиваются баллы от 0 до 3, из которых рана оценивается на основе размера, глубины, тяжести и ожидаемой сложности достижения заживления раны; ишемия оценивается на основе градации ЛПИ, а инфекция стопы оценивается на основе объема и глубины раны [177]. Клинические исследования показали, что эта система впервую очередь имеет ценность для прогнозирования большой ампутации [104]. У пациентов с DFU и сосудистыми заболеваниями рекомендуется использовать систему WIFI для оценки перфузии и сосудистой функции, а также для быстрого проведения реваскуляризации и/или дренажа [79]. Поскольку для оценки индексов перфузии стопы требуются специальные измерения, для оценки с использованием этой системы требуется опыт в сосудистом вмешательстве, что указывает на то, что она не идеальна для использования в первичной и/или общественной помощи [183].

Классификация WIFI при СДС [177] представлена на рисунке 1.1:

1. Неинфицированная рана/язва. Нет системных и местных симптомов или признаков инфекции.

2. Легкая инфекция. Инфекционный процесс, вовлекающий лишь кожу и подкожную клетчатку. Присутствуют как минимум 2 из этих признаков: местный отек или уплотнение; эритема вокруг раны > 0,5 см; боль; местное повышение температуры; гнойные выделения.

Нет никаких других причин воспалительной реакции кожи (например,

травмы, подагры, острой нейроостеоартропатии Шарко, перелома, тромбоза или венозного стаза).

3. Инфекция средней тяжести.

Обширное воспаление кожи и подкожной клетчатки (без системных проявлений) или вовлечение лежащих глубже структур:

- только кожа или подкожно-жировая клетчатка;
- эритема вокруг раны не > 2 см;

Инфекция без системных проявлений и вовлекающая глубокие структуры

- эритема распространяется > 2 см от края раны, и/или
- поражение тканей глубже кожи и подкожно-жировой клетчатки (вовлечение сухожилий, мышц, суставов и костей с формированием абсцесса, развитием остеомиелита, гнойного артрита, фасциита)

4.Тяжелая инфекция, соответствующая современному пониманию сепсиса (с 2016 г. концепция «Sepsis-3»).

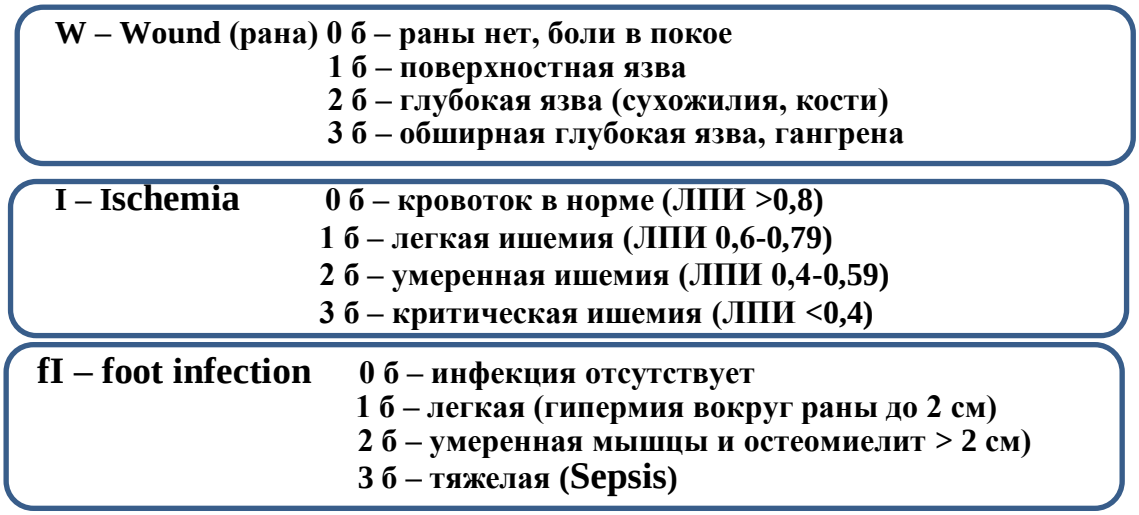


Рисунок 1.1. Классификация WIFI

Учитывая большой процент высоких ампутаций (30-50%) результаты лечения гнойно-деструктивных осложнений диабетической стопы и по настоящее время не удовлетворяют хирургов разных стран [104].

Анализ литературных данных подтверждает высокую актуальность диссертационного исследования, посвящённого разработке и научному обоснованию комплексной хирургической тактики лечения полирезистентной

раневой инфекции у пациентов с синдромом диабетической стопы. СДС остаётся одной из наиболее тяжёлых микро- и макроваскулярных осложнений сахарного диабета, ассоциированной с высоким риском гнойно-некротических осложнений, инвалидизации и ампутаций нижних конечностей.

По данным Международной диабетической федерации и отечественных регистров, численность пациентов с сахарным диабетом неуклонно растёт, что приводит к увеличению числа случаев СДС. На долю СДС приходится значительная часть всех диабетических осложнений: около 15% пациентов с диабетом сталкиваются с язвенными поражениями стоп, из которых у 15% развивается остеомиелит и у каждого пятнадцатого – необходимость в ампутации. При этом летальность после высоких ампутаций достигает 45%, а рецидивирование язвенных дефектов наблюдается у 90% пациентов.

Особое значение в патогенезе и клиническом течении СДС имеет сочетание диабетической нейропатии, артериальной ишемии и венозной недостаточности, что создаёт «триаду риска» для формирования незаживающих ран и вторичной инфекции. Включение в патогенетическую цепь развития СДС факторов венозной недостаточности позволяет расширить представление о механизмах нарушения микроциркуляции и тканевой репарации, особенно у пациентов с ожирением и метаболическим синдромом.

Клиническая значимость проблемы усиливается тем, что в последние годы отмечается рост числа инфекций, вызванных полирезистентной микрофлорой, что значительно осложняет лечение гнойных осложнений СДС и требует внедрения новых методов антимикробной терапии, физических факторов и коррекции периферического кровотока.

Таким образом, разработка современных подходов к диагностике и лечению полирезистентной раневой инфекции у больных с СДС, с учётом патогенетического влияния венозной недостаточности и микроциркуляторных нарушений, является важной и своевременной задачей, имеющей существенное социальное и экономическое значение.

1.2. Связь синдрома диабетической стопы и венозной недостаточности

Существенным компонентом в развитии более 70% трофических язв, в том числе и при СДС является венозная недостаточность [208].

Статистика показывает, что в России хронической венозной недостаточностью (ХВН) нижних конечностей страдает 38 миллионов человек, причем 5 миллионов из них имеют трофические язвы. У лиц пожилого возраста частота развития трофических язв достигает 11%. Частота ежегодных рецидивов венозных язв составляет около 20% [47].

Факторы риска развития ХВН: женский пол – 63,0%; возраст – 53,5 (±17,8); постоянная занятость – 35,7%; отягощенный семейный анамнез ХЗВ – 33,6%; избыточный вес/ожирение – 26,0/33,1%; курение (в настоящее время и в прошлом) – 22,5%; семейная история ВТЭО – 3,4%; длительный ортостаз: работа стоя более 5 часов – 18,5%; тяжелый физический труд – 14,9%; длительный ортостаз: работа сидя более 5 часов в день – 4,4%; регулярные занятия спортом – 3,0%.

Известно, что зависимость развития ХВН от избыточного веса/ожирения подтверждена в крупномасштабных научных исследованиях [48, 54]:

1. избыточная масса тела является важнейшим фактором риска возникновения и главным предиктором всех типов венозной патологии. ХВН можно обнаружить у 77% лиц с избыточной массой тела. При этом женщины с ХЗВ несколько чаще имеют избыточную массу тела, чем мужчины (45,2 и 38,6% соответственно) [56].

2. достоверно подтверждено, что риск возникновения ХВН при ожирении возрастает в 3,28–3,60 раза, а риск развития тяжелых форм (С4-С6 по CEAP) увеличивается в 2,7 раза [6,56].

3. описан возможный механизм ХВН у больных с избыточной массой тела Основным звеном патогенеза является повышенное внутрибрюшное давление, обусловленное избыточным отложением висцерального жира в брюшной полости, что в свою очередь приводит к сдавлению подвздошных и

бедренных вен и повышению давления в илеофеморальном венозном сегменте [105].

В патогенезе ТЯ при ХВН ключевую роль играет активация лейкоцитов. Феномен «краевого стояния» лейкоцитов [54] развивается на фоне венозной гипертензии, расширения посткапиллярных венул и снижении скорости кровотока. На этом фоне лейкоциты передвигаются медленнее эритроцитов, что объясняется их большим объемом и сферической формой. Это приводит к скоплению эритроцитов позади каждого лейкоцита, и эритроциты сдвигают белые клетки крови к периферии сосуда, где часть их прилипает к эндотелию. Адгезия лейкоцитов приводит к их активации и выборосу биологически активных веществ (лейкотриены, интерлейкины, эластаза, лактоферрин, свободные радикалы и тд.) [7]. Непосредственное повреждение эндотелия на микроциркуляторном уровне, тромбирование и склерозирование артериол гиподермы, признаки спазма артерий мелкого калибра и артериол в сосочках дермы приводит к уменьшению как числа, так и протяженности капилляров, что соответствует атрофии и уплощению сосочкового слоя. Наибольшие изменения наблюдаются в сосудах поверхностного венозного сплетения, в то время как глубокое венозное сплетение зачастую остается неповрежденным [63].

Таким образом, у больных ХВН и с избыточной массой тела имеется риск более тяжелого течения ХЗВ, чем у пациентов с нормальной массой тела [38].

Ожирение и сахарный диабет 2 типа (СД2) являются эпидемиями 21 века. Ожирение является одним из главных факторов риска развития СД2, поэтому часто можно диагностировать оба заболевания у одного пациента. Наличие у пациента обоих заболеваний создает трудности как для нормализации углеводного обмена, так и для достижения нормальной массы тела [14].

Таким образом, СД становится одним из косвенных факторов риска ХЗВ. Что мы знаем о венозных заболеваниях при диабетической нейропатической стопе? Mani R и его коллеги исследовали распространённость венозной недостаточности, нарушение гемодинамики в венах икроножных мышц и

потерю микроциркуляторного контроля в коже на тыльной стороне стопы у пациентов с диабетом и без него [174]. Исследователи обнаружили значительно более высокий уровень венозной недостаточности в группе пациентов с диабетом, а также гемодинамические и морфологические изменения в венах.

Микроциркуляция – это терминальная сосудистая сеть системы кровообращения, состоящая из артериол, посткапиллярных венул и капилляров. Функции микроциркуляции включают перенос кислорода, регуляцию обмена веществ между внутрисосудистым и тканевым пространствами, а также обмен питательных веществ в тканях [130]. Микроциркуляция, пожалуй, является самым важным компонентом сердечно-сосудистой системы. Нарушение микроциркуляции в стопах часто наблюдается у пациентов с диабетом. Множество биохимических процессов могут способствовать ухудшению микроциркуляции.

Из-за симпатической денервации диабетическая стопа часто не может реагировать расширением сосудов в условиях стресса, что приводит к функциональной ишемии даже при удовлетворительном кровотоке. И наоборот, кровоток в состоянии покоя может усиливаться в ногах пациентов с диабетической нейропатией, что приводит к повышению температуры кожи, учащению пульса и расширению вен [109]. Расширение вен увеличивает фильтрацию жидкости и приводит к образованию отёка в тканях стопы.

Сосуды микроциркуляции почти полностью выстланы эндотелиальными клетками. Одной из важнейших субклеточных структур, обеспечивающих функцию эндотелия, является гликокаликс, расположенный на внутренней стороне эндотелия [130]. Гликокаликс выполняет несколько важнейших функций: действует как резервуар для антитромботических факторов, предотвращающих свертывание крови; регулирует выработку оксида азота (NO); модулирует проницаемость макромолекул; модулирует адгезию лейкоцитов. Хроническая гипергликемия, наблюдаемая у пациентов с диабетом, приводит к истончению гликокаликса. В ответ на гипергликемию толщина гликокаликса уменьшается, что приводит к потере важнейших

функций эндотелия кровеносных сосудов. Повышенная проницаемость и утечка жидкости в близлежащие ткани также вызывают отёк стопы, повышенную адгезию лейкоцитов и высвобождение цитокинов, что приводит к воспалительной реакции.

Анализ современных литературных данных свидетельствует о тесной патогенетической взаимосвязи между ХВН и развитием СДС, особенно в аспекте формирования трофических язв и гнойно-некротических осложнений.

Таким образом, наличие ХВН у пациентов с СДС следует рассматривать как неблагоприятный прогностический фактор, требующий обязательного учета при разработке алгоритмов диагностики и лечения. Интеграция венозной компоненты в общую стратегию управления больными с синдромом диабетической стопы открывает новые возможности для профилактики и снижения частоты гнойно-некротических осложнений, включая полирезистентную раневую инфекцию, и может значительно улучшить исходы лечения и качество жизни данной категории пациентов.

Эти данные определяют высокую актуальность настоящего диссертационного исследования, направленного на разработку научно обоснованной тактики комплексного хирургического лечения пациентов с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной раневой инфекцией, с учётом коррекции венозной недостаточности и нарушений микроциркуляции.

1.3. Инфекция диабетической стопы

Патофизиология инфекций диабетической стопы неразрывно связана с лежащими в основе микрососудистыми и невропатическими осложнениями сахарного диабета. Периферическая невропатия, характеризующаяся потерей чувствительности и двигательными нарушениями, предрасполагает людей к деформациям стоп и изменению биомеханики, увеличивая риск образования язв. Сопутствующее заболевание периферических артерий усугубляет ишемию тканей, ухудшая заживление ран и создавая благоприятную среду для

инфекции [76,106].

Результаты 97 исследований, охвативших около 829 900 участников, свидетельствуют о том, что пациенты, страдающие сахарным диабетом, подвержены более высокому риску инфекционных заболеваний.

В сравнении с людьми, не имеющими диабета, пациенты с сахарным диабетом имеют в 2,39 раза (95% доверительный интервал: 1,95–27,93) более высокий риск развития любой инфекции. Кроме того, они имеют в 1,67 раза (95% доверительный интервал: 1,45–1,92) более высокий риск смерти от пневмонии [36].

Примерно от 50% до 60% язв СДС осложняются инфекцией, и около 20% инфекций средней и тяжёлой степени приводят к ампутации нижних конечностей. Пятилетняя смертность среди людей с язвами на стопах у диабетиков составляет примерно 30%, а среди тех, кто перенёс ампутацию, – более 70% [76].

Дистальная диабетическая нейропатия нижних конечностей, сопровождающаяся снижением тактильной и болевой чувствительности, может приводить к бессимптомному течению микротравм. Нарушение микроциркуляции, известное как микроангиопатия, вызывает повреждение барьерной функции кожи и слизистых оболочек, а также замедляет реакцию на микробную инвазию, что затрудняет заживление язв и послеоперационных ран у пациентов с сахарным диабетом [21].

Инфекционные осложнения синдрома диабетической стопы характеризуются тяжёлым течением, что обусловливает необходимость частых визитов в медицинские учреждения, госпитализаций и ежедневного ухода за раневыми поверхностями. Эти осложнения требуют применения антимикробной терапии и хирургических вмешательств, что сопряжено со значительными затратами на медицинское обслуживание и повышенным риском неблагоприятного исхода [11,21].

Микробиологически инфекции диабетической стопы включает разнообразный спектр патогенов, при этом Staphylococcusaureus выступает в

качестве преобладающего возбудителя [135]. Однако микробный профиль инфекций СДС демонстрирует значительную гетерогенность. Установлена возрастающая встречаемость множественно-резистентных патогенов, включая Pseudomonas aeruginosa и грамотрицательные палочки с множественной лекарственной устойчивостью [135]. Понимание микробной эпидемиологии инфекций СДС имеет важное значение проведения антимикробной терапии.

Наиболее распространенными бактериями в DFI являются Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris и Morganella morganii, все из которых продемонстрировали устойчивость к антибиотикам к различным препаратам, включая ампициллин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, триметоприм-сульфаметоксазол и цефуроксим. Среди этих антибиотиков наибольшую устойчивость продемонстрировала Escherichia coli [181]. Несмотря на то, что грамотрицательные бактерии считаются наиболее распространенной причиной DFI, наиболее заметными факторами риска являются гипертония и невропатия. Кроме того, было обнаружено, что чрезмерное использование антибиотиков играет роль в развитии этих инфекций, устойчивых к лекарствам [236]. Эти грамотрицательные бактерии также были выделены у пациентов с язвами стопы, перенесших ампутацию. Наиболее заметной из них является Escherichia coli [72].

Исследование изучало диабетический остеомиелит стопы и выявило как грамположительные, так и грамотрицательные патогены в костных культурах. Эти организмы включали коагулазоотрицательный стафилококк, Staphylococcus aureus, виды Proteus, Pseudomonas aeruginosa и Escherichia coli. Хотя культуры были в основном полимикробными, в них преобладали грамположительные, млм грамотрицательные микроорганизмы. В обоих случаях был обнаружен пенициллин без резистентности к β-лактамазе, но сульфаниламиды были свойственны грамотрицательным микроорганизмам [68]. В другом исследовании, проведенном в странах Африки к югу от Сахары, Staphylococcus aureus показал самую высокую объединенную резистентность к гентамицину и ципрофлоксацину. E. coli и Klebsiella pneumoniae показали значительные

показатели резистентности к нескольким распространенным антибиотикам [220].

В случае полимикробных инфекций в DFI определение конкретного вида, ответственного за инфекцию, может быть сложным из-за множественности микроорганизмов. Несколько факторов способствуют сложности идентификации возбудителя полимикробных инфекций. Во-первых, синергические взаимодействия между видами микробов могут привести к повышенной вирулентности или устойчивости к антибиотикам, что затрудняет изоляцию и приписывание инфекции одному организму [195]. Кроме того, микробный состав полимикробных инфекций может различаться у разных людей и даже у одного и того же человека с течением времени, что затрудняет идентификацию первичного возбудителя, ответственного за инфекцию [150]. Кроме того, обычные диагностические методы не всегда могут точно идентифицировать все микроорганизмы, присутствующие в полимикробной инфекции. Некоторые организмы могут быть привередливыми или трудными для культивирования, что приводит к недооценке их роли в инфекции [155]. Наконец, многие микроорганизмы при полимикробных инфекциях могут образовывать биопленки, защищающие от антибиотиков и иммунных реакций хозяина. Биопленки могут состоять из нескольких видов, что еще больше усложняет идентификацию доминирующего патогена [173]. Факторы хозяина, включая иммунный статус, сопутствующие заболевания и анатомические факторы, также могут влиять на микробный состав полимикробных инфекций. [144].

По мировым оценкам, проблема антибиотикорезистентности носит нарастающий характер [2]. Особое место в повышении значимости этой проблемы занимает амбулаторное лечение, как один из этапов «прикармливания» микроорганизмов. Общедоступность АМП, назначение АМП в дозах ниже терапевтического эффекта, а также широкое использование АМП в сельском хозяйстве для увеличения массы откармливаемых животных резко снижают их фармакотерапевтическую эффективность [190].

В России с 2012 по 2019 г. зарегистрировано свыше 33 млн случаев инфекционных заболеваний, от которых умерли 31159 человек (по данным, приведенным в Государственном докладе «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году») [15]. Тем самым проблема антибиотикорезистентности остается актуальной, а для ее решения необходимо понимать механизмы, лежащие в основе данного процесса. Доказано, что 65–80% всех инфекций вызываются сообществами микроорганизмов, заключенных в биополимерный матрикс синтезированных ими веществ (биопленку) [58, 131].

Она является одним из факторов патогенности бактерий. Согласно современным представлениям, биопленка (англ.: biofilm) – структурно организованное сообщество микроорганизмов, заключенное внутри полимерного матрикса, синтезированного членами сообщества, и прикрепленное к живым или инертным поверхностям. Для биопленок характерными чертами являются структурная гетерогенность, генетическое разнообразие (биопленку могут образовать представители разных видов микроорганизмов, включая бактерии, простейшие, грибы и водоросли), сложные регуляторные механизмы, контролирующие «общественные взаимоотношения» внутри сообщества, и наличие внеклеточного экзополимерного матрикса (EPS), образуемого из полисахаридов, белков, липидов и нуклеиновых кислот (РНК и внеклеточной ДНК, еДНК). Внеклеточный матрикс защищает микроорганизмы от факторов внешнего воздействия, будь то факторы внешней среды или факторы иммунной защиты организма [118].

Одной из групп хирургических инфекций, вызываемых микроорганизмами, образующих биопленки, являются инфекции, связанные с применением имплантов: шунты, катетеры, искусственные клапаны, стенты, перипротезные инфекции, а также контактные линзы. Согласно данным Д.Р.Моррис (2005), «к микроорганизмам, наиболее часто образующим биопленки, относятся Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus spp., Streptococcus

spp., Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Enterobacters spp., Acynetobacters spp. и ряд других». Способность биопленок противостоять иммунной атаке и антибиотикам связана с наличием так называемых генов стрессового ответа, которые экспрессируются у бактерий в неблагоприятных условиях [57]. P. aeruginosa и S. aureus входят в перечень наиболее распространенных патогенов в биопленках, обнаруженных в медицинской практике. Эти же микроорганизмы включены в перечень так называемых ESKAPE-патогенов (Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa и Enterobacters spp.). Все бактерии, входящие в эту группу микроорганизмов, обладают способностью «избегать» действия широко используемых антибиотиков, таких как пенициллин, ванкомицин, карбапенемы и другие. Указанные штаммы бактерий являются доминирующими возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [50,187].

Основой многих хронических инфекций, возникающих у людей, является ослабленная иммунная система, являющаяся основным фактором, который определяет высокий риск персистенции бактерий, их инвазии и, как следствие, развитие инфекционного процесса.

Пациенты, страдающие сахарным диабетом, заслуживают особого внимания, т. к. у них наблюдаются нарушения иммунного ответа организма на разных стадиях этого заболевания. В связи с этим одними из важных проблем являются ранняя диагностика, профилактика и лечение синдрома диабетической стопы как одного из грозных осложнений сахарного диабета.

При инфекциях свежих, ранее нелеченных язв стопы основными возбудителями являются Staphylococcus aureus и стрептококки. Хронические, рецидивирующие язвы, а также инфекции с высоким риском ампутации конечности имеют, как правило, полимикробную этиологию: Staphylococcus aureus, стрептококки группы B, энтерококки, грамотрицательные энтеробактерии, а также анаэробные грамположительные кокки и Bacteroides spp. [8,163].

В настоящее время серьезную проблему представляет распространение метициллинрезистентного стафилококка (MRSA–methicillin-resistant Staphylococcus aureus), затрудняющего лечение инфекций стопы при сахарном диабете. Частота выделения этого MRSA составляет 40% [165].

Это значительно осложняет лечение и требует внедрения новых подходов к антимикробной терапии, включая применение бактериофагов, физических факторов (низкотемпературная аргоновая плазма) и коррекции микроциркуляторных нарушений.

Кроме того, установлено, что развитие и прогрессирование СДС тесно связано с наличием венозной недостаточности и нарушением периферического кровообращения. У более 70% пациентов с трофическими язвами нижних конечностей выявляется сочетание диабета и венозной патологии, что усиливает тканевую гипоксию, замедляет репаративные процессы и повышает риск инфекционных осложнений. Факторы риска, такие как ожирение и метаболический синдром, увеличивают вероятность развития тяжёлых форм хронической венозной недостаточности в 2,7–3,6 раза.

Таким образом, проблема лечения полирезистентной инфекции при синдроме диабетической стопы является актуальной задачей современной медицины. Разработка эффективных методов диагностики, профилактики и лечения, учитывающих патогенетические особенности, микробный спектр и нарушения периферического кровотока, имеет важное социальное, экономическое и клиническое значение и соответствует приоритетным направлениям развития здравоохранения.

1.4. Биопленки – основная форма существования микробных сообществ

За последние 40 лет принципиально изменился подход к этиологии и патогенезу и подбору терапии заболеваний, а также осложнений, вызванных инфекционными агентами, в частности бактериальным компонентом. Доказано, что среди всех возбудителей инфекций около 65-80% вызываются бактериями, формирующими биопленки [132].

Биопленки (англ. – Biofilm) – многоуровневые сообщества микроорганизмов, образующие тонкий слой на поверхности раздела жидкой и твердой фазы, внедренные в синтезированный ими внеклеточный полимерный матрикс собственного производства, состоящий из полисахаридов, белков и ДНК, фиксированных на различных абиотических и биотических поверхностях.

На сегодняшний день в структуре биопленки принято различать: а) микроколонии микроорганизмов (15-35% объема), так называемые сессильные (англ. sessilis – сидящий, оседлый), т.е. неподвижные клетки (бактерии или грибы), б) экзополимерный матрикс (65-85% объема). Полимерные вещества, выделяемые адгезированными клетками во внешнюю среду, называют матриксом или внеклеточной полимерной субстанцией (matrix, EPS). Матрикс высоко гидратирован, по некоторым оценочным данным на 97% состоит из связанной воды. По своей структуре он напоминает «губку», т.е. имеет пористую структуру, пропускающую низкомолекулярные соединения, но задерживающую крупные молекулы, белки и частицы среды. В том числе, в структуре биопленки нередко выделяют водные каналы, по которым растворенные в среде вещества поступают к нижележащим слоям клеток [117].

Также, внеклеточная ДНК может играть структурную роль и служить мишенью для экзонуклеаз. Суммарное содержание ДНК в матриксе невелико. Соотношение количества матрикса и клеток в биопленке может сильно варьировать. Считается, что в некоторых случаях клетки могут занимать лишь 10% по объему биопленки. Клетки в биопленках могут находиться на разных стадиях клеточного цикла. Таким образом, отмершие и разрушившиеся клетки также входят в состав биопленки. Биопленки, формируемые несколькими видами микроорганизмов, называют смешанными (multispecies). Биопленки, сформированные нитями грибов, называют фунгальными (fungal). Чаще всего в естественной среде микроорганизмы сосуществуют в смешанных биопленках, совместно осуществляя продукцию экзополисахаридов и белков. Микроорганизмы, вышедшие за пределы биопленки, называются планктонными или свободно плавающими. Последние притягиваются к

влажным или загрязненным поверхностям и прилипают к ним под воздействием межмолекулярных сил (силы Ван-дер-Ваальса). Если микроорганизмы сразу не отделить от поверхности, то они «навсегда» прикрепятся к поверхности посредством ворсинок (пилей), т.е. наступит этап адгезии [207]. При этом, бактериальный инокулум, равный 1000 КОЕ/мл, запускает инфекционный процесс. Началом развития биопленок является прикрепление бактерий к поверхности инородного материала. Затем происходит созревание биопленки, во время которого микроорганизмы теряют подвижность, прикрепление становится необратимым, слой биопленки утолщается, образуются кластеры микроколоний. По мере роста биопленки структура удерживается вместе и защищается выделенным внеклеточным полимерным веществом из липополисахаридов, гликопротеидов, протеогликанов, нуклеиновых кислот (для Pseudomonas aeruginosa – альгинатом). Подобно кровеносной системе биопленку пронизывают поры и каналы. Через 9 дней от начала образования биопленки структура биопленочных кластеров изменяется и начинается процесс дисперсии (распада), во время которого бактерии способны активно покидать биопленку и возвращаться к планктонному образу жизни. По мере того как биопленки превращаются в макроскопические трехмерные структуры, возможен отрыв участков биопленки, высвобождение миллионов микроорганизмов, которые могут перемещаться в организме с током крови, мочи, кишечного содержимого, имитируя метастазирование [123, 152].

По данным Американского центра контроля и профилактики заболеваний (CDC) с образованием биопленок протекают до 65-80% всех бактериальных инфекций [96].

Выделяют 2 группы биопленочных инфекций:

1. хронические инфекции (хронический синусит, хронический средний отит, хронические раны, легочные инфекции у больных муковисцидозом, вентиляторассоциированные пневмонии и др.)

2. инфекции, связанные с имплантируемым медицинским

оборудованием (девайс-ассоциированные инфекции (от англ. device – устройство) (инфекция шунта ЦНС, кератит, обусловленный контактными линзами, катетер-ассоциированные инфекции, эндокардиты, связанные с искусственными клапанами, стент-ассоциированные инфекции, перипротезные инфекции, инфекции в области имплантов и др.).

Микроорганизмы, наиболее часто образующие биопленки: Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus spp., Streptococcus spp., а также Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Enterobacters spp., Acynetobacters spp. и др. [73,83].

Благодаря существованию в виде биопленок, популяция бактерий усиливает свою защиту от фагоцитоза, ультрафиолетового излучения, вирусов и дегидратации, а также от антибиотиков и факторов иммунной защиты макроорганизма, что в современной медицинской практике представляет серьезную проблему терапии заболеваний, вызванных устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами [194]. Бактерии в биопленках обладают повышенной выживаемостью в присутствии агрессивных веществ, факторов иммунной защиты макроорганизма и антибактериальных препаратов. Бактерии в биопленках сохраняют жизнеспособность даже в присутствии антибиотиков, добавленных в количестве 500–1000 раз большем, чем их минимальная подавляющая концентрация [194]. В 2012 г. опубликованы данные о наличии множественной, экстремальной и даже полной устойчивости к антибиотикам у большинства видов бактерий. Подобное явление чаще всего обусловлено сцеплением генов устойчивости к антибиотикам с другими детерминантами резистентности. По некоторым данным до 80% микроорганизмов при биопленочной инфекции бывают мультирезистентными [24].

Наличие биопленок приводит к тому, что традиционные методы микробиологической диагностики выявляют не все микроорганизмы, участвующие в инфекционном процессе. Идентифицировать микроорганизмы в составе биопленок позволяют такие современные молекулярные методы, как электрофорез в геле и ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) с флюоресцентной гибридизацией in situ, эпифлюоресцентная микроскопия,

сканирующая электронная микроскопия, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (CLSM), ПЦР с обратной транскриптазой и другие исследования. Неполная эрадикация микроорганизмов при биопленочных инфекциях в свою очередь способствует их персистенции и формированию хронических процессов [52]. Микроорганизмы в биопленке формируют единую генетическую систему в виде плазмид – мобильных кольцевых ДНК, несущих поведенческий код для членов биопленки, определяющих их трофические, энергетические и другие связи между собой и окружающей средой. Последнее называют «quorum sensing» или социальным поведением микроорганизмов. Оно позволяет бактериям действовать коллективно, подобно клеткам в многоклеточном организме. Считается доказанным, что социальное поведение микробов биопленки повышает вирулентность и патогенность всех возбудителей [225]. «Чувство кворума» как механизм межклеточной коммуникации было открыто 25 лет назад. Биопленки оказались способными выдерживать концентрации антибиотиков в 100-1000 раз больше, чем подавляющие планктонные клетки. Аналогичным образом, фагоциты макроорганизма неспособны поглощать биопленки в отличие от отдельных бактериальных клеток. Повышает устойчивость биопленок к вредным факторам присущее им генетическое и фенотипическое разнообразие, которое позволяет им переносить большинство терапевтических воздействий [59, 132].

Понятия о биопленках, подтвержденные с помощью современных методов визуализации, изменили взгляды на инфекционные заболевания. Всё новые данные свидетельствуют о том, что хронические инфекции принципиально отличаются от острых, а существование биопленок при хронических инфекциях требует совершенно новых подходов к их диагностике и лечению [120]. Сейчас не вызывает сомнений необходимость пересмотреть концепцию патогенеза различных хронических инфекций, внедрив в нее имеющиеся данные о биопленках. В практическом отношении это требует использования новых методов диагностики и лечения, в том числе применение физических методов воздействия [59,61].

Точкой приложения этиотропного подхода к воздействию на биопленки могут быть механизмы первоначальной адгезии бактерий к поверхности, блокирование синтеза или разрушение полимерного матрикса, нарушение межклеточного обмена информацией, воздействие бактерицидными агентами и физическими факторами.

В связи с этим стандартная антибактериальная терапия, даже с учетом подбора чувствительности, часто не позволяет достичь планируемого результата и современный подход к воздействию на микробные биопленки, несомненно, требует дальнейшего детального изучения и совершенствования.

Таким образом, исследование устранения биопленок как основной формы существования микробных сообществ при СДС является важнейшей задачей современной антимикробной терапии. Разработка эффективных методов лечения биопленочных инфекций, особенно в условиях сочетания полирезистентной микрофлоры и нарушений периферического кровообращения, имеет высокую научную и практическую значимость.

1.5. Особенности резистентности к антибактериальным средствам инфекций СДС

Антибиотикорезистентность – актуальная проблема нашего времени, имеющая ежегодную устойчивую тенденцию к увеличению в геометрической прогрессии. По данным Всемирной организации здравоохранения, только 50% пациентов можно вылечить с помощью препаратов, находящихся в обращении. Аналитики подсчитали, что к 2050 году экономический ущерб от супербактерий составит 100 триллионов долларов. К этому времени супербактерии унесут жизни 360 миллионов человек [229].

Российские национальные рекомендации (2012) послужили основой для разработки программы СКАТ (Стратегия Контроля Антимикробной Терапии). В 2017-2018 годах более 60 стационаров РФ осуществляли реализацию программы СКАТ на разных этапах ее выполнения. Базовыми принципами реализации СКАТ является постоянный мониторинг распространения

антимикробной резистентности и ее сдерживание [31], а также анализ локальной антибиотикорезистентности, учитывающий специфику микрофлоры каждого отделения. Поэтому одним из приоритетных направлений развития медицинской организации должно являться создание собственной службы современной бактериологии.

Наблюдаемый высокий риск антибиотикорезистентности, связанный с такими факторами, как высокий ИМТ, повышенный уровень HbA1c, повышенный уровень глюкозы в крови натощак, а также течение и размер язвы при инфекции, подчеркивает сложную связь между характеристиками хозяина и микробной восприимчивостью к антибиотикам. Известно, что высокий ИМТ связан с хроническим воспалением и нарушением иммунной функции, создавая благоприятную среду для микробной пролиферации и устойчивости к антибиотикам. Повышенная жировая ткань у людей с высоким ИМТ может служить резервуаром для патогенов, что приводит к персистирующим инфекциям и снижению эффективности антибиотиков [233]. Повышенные уровни HbA1c и глюкозы в крови натощак способствуют нарушению иммунного ответа и замедленному заживлению ран, что обычно наблюдается у людей с плохо контролируемым диабетом. Гипергликемическая среда способствует росту бактерий и образованию биопленки, способствуя формированию устойчивости к антибиотикам [233]. Течение и размер язвы при СДС указывают на тяжесть и хронизацию инфекции. Более крупные и более хронические язвы часто содержат разнообразные микробные популяции, включая штаммы, устойчивые к антибиотикам. Наличие биопленок в хронических язвах еще больше усложняет лечение и способствует развитию устойчивости к антибиотикам [173].

Среди проблемных инфекций у пациентов с синдромом диабетической стопы выделяются анаэробные неклостридиальные инфекции, инфекции, вызванные метициллин-резистентным золотистым стафилококком (MRSA), а также полирезистентными штаммами грамотрицательных палочек, не образующих ферменты [22, 28].

Факторы риска развития инфекции, вызванной метициллин-резистентным золотистым стафилококком (MRSA), включают: наличие инфекции или колонизации MRSA в течение последнего года; приём антибиотиков в течение последнего месяца госпитализация в течение последнего года; наличие остеомиелита; контакт с пациентом, инфицированным MRSA; наличие гнойных свищей; высокая локальная распространённость MRSA (≥ 50% для лёгких инфекций и ≥ 30% для умеренных инфекций); тяжёлая инфекция диабетической стопы.

Другими факторами риска для инфекций, вызванных полирезистентными штаммами неферментирующих грамотрицательных палочек, таких как Pseudomonas aeruginosa, являются: тёплый климат; неэффективность предыдущей антибиотикотерапии, не включавшей P. aeruginosa в спектр действия; высокая местная распространённость P. aeruginosa (более 10% пациентов); тяжёлая инфекция диабетической стопы [23].

Ведущими являются 16–18 видов микроорганизмов, вызывающих инфекции диабетической стопы как у стационарных пациентов, так и на этапе амбулаторного лечения. Граммположительные бактерии остаются доминирующими, составляя 70,5% и 54% у стационарных и амбулаторных пациентов соответственно. Золотистый стафилококк (Staphylococcus aureus) присутствует в 35,5% случаев.

Резистентность к антибиотикам, таким как оксациллин, рифампицин, гентамицин и эритромицин, возрастает на стационарном этапе лечения и сохраняется на амбулаторном [22].

Наблюдается значительная вариабельность частоты выделения грамотрицательных палочек в зависимости от этапа лечения пациентов.

Особое внимание привлекает доминирование семейства Enterobacteriaceae, включая такие виды, как Proteus mirabilis, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae, Escherichia coli и Citrobacter freundii. На амбулаторном этапе лечения эти микроорганизмы составляют до 20% от всех выделенных культур. Однако их высокая устойчивость к антибиотикам

вызывает серьёзную озабоченность. В частности, резистентность семейства Enterobacteriaceae к левофлоксацину и ципрофлоксацину достигает 100%, что значительно ограничивает возможности эффективной терапии.

Эти данные подчёркивают необходимость постоянного мониторинга антибиотикорезистентности и разработки новых подходов к лечению инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами [22].

Наблюдается заметное увеличение частоты выделения неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов по мере перехода пациентов со стационарного на амбулаторный этап лечения. На пример, доля Acinetobacter baumannii возрастает с 9,8% до 11,9%, а Pseudomonas aeruginosa - с 2,6% до 9,4%. При этом подавляющее большинство выделенных штаммов обладают полирезистентностью, что значительно осложняет процесс лечения [29].

Уровень устойчивости этих микроорганизмов к антибиотикам вызывает серьезную озабоченность. Так, резистентность к левофлоксацину и ципрофлоксацину достигает 94,1%, а к комбинации пиперциллина с тазабактамом – 100%. Даже меропенем оказывается неэффективным в 58,8% случаев. [23].

Иммунный статус, сопутствующие заболевания и анатомические факторы, могут влиять на микробный состав полимикробных инфекций. Реакция больного СД на инфекцию может также влиять на относительное количество и патогенность различных микроорганизмов [144, 167]. Среди инфекций, серьезно угрожающих пораженной конечности, посевы чаще всего идентифицируют такие патогены, как Staphylococcus aureus, Enterococcus, факультативные грамотрицательные палочки и стрептококки группы B [69,.128].

Распространенность полирезистентных микроорганизмов изменилась с началом пандемии COVID-19, при этом риск увеличился в 3 раза по сравнению с периодом до пандемии. Некоторые факторы, ответственные за это в исследуемой популяции, включали самостоятельное назначение антибиотиков,

предыдущую госпитализацию и назначение антибиотиков врачами общей практики [95]. Неконтролируемое, предшествующее госпитализации, применение антибиотиков определено как ключевой фактор высокой распространенности MRSA, а также уровень устойчивости, проявляемый грамотрицательными микроорганизмами к различным классам антибиотиков [172]. По мнению LebowitzD и соавт эпизод рецидивирующей инфекции диабетической стопы, следующий за успешно вылеченным эпизодом, не увеличивает вероятность AMR [160].

Модели устойчивости к антибиотикам и различные тенденции устойчивости наблюдались среди представителей Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus и Enterococcus faecalis как во времени, так и в глобальном масштабе. Среди Enterobacteriaceae продукция бета-лактамаз расширенного спектра выделяется как общий механизм устойчивости [197]. В частности, для Pseudomonas aeruginosa наблюдалась значительная тенденция к снижению показателей устойчивости к ципрофлоксацину, цефтазидиму, меропенему и имипенему. Это снижение показателей резистентности может быть потенциально связано с уменьшением использования ципрофлоксацина среди изолятов Pseudomonas aeruginosa [151]. Несколько факторов могут объяснить снижение резистентности Pseudomonas aeruginosa к меропенему и имипенему. Изменения в использовании антибиотиков в медицинских учреждениях могут существенно повлиять на развитие резистентности. Переход к более разумному назначению меропенема и имипенема мог со временем снизить показатели резистентности [159]. Кроме того, реализация программ по управлению антибиотиками, направленных на оптимизацию использования антибиотиков, содействие надлежащей практике назначения и предотвращение возникновения резистентности, вероятно, играет решающую роль в этой наблюдаемой тенденции [80]. Эволюция бактериальных штаммов является еще одним важным фактором. P. aeruginosa известна своей быстрой адаптацией и эволюцией. Штаммы с более низкой внутренней резистентностью к меропенему и имипенему могли стать более

распространенными, что привело к общему снижению показателей резистентности [189]. Кроме того, факторы окружающей среды, такие как изменения в условиях медицинского учреждения или воздействие различных антимикробных препаратов, также могут влиять на характер резистентности P. aeruginosa с течением времени [217].

Несколько антибиотиков, одобренных для лечения различных инфекций, демонстрируют потенциальную эффективность в лечении СДС. В лечении инфекций, вызванных Staphylococcus aureus, многообещающими являются цефтаролин, далбаванцин, оритаванцин и тедизолид. В случаях инфекций, вызванных Pseudomonas aeruginosa и Enterobacteriaceae, несколько комбинированных терапий продемонстрировали эффективность. Эти комбинации включают цефтазидим/авибактам, цефтолозан/тазобактам, имипенем/циластатин/релебактам и цефидерокол. Кроме того, меропенем/ваборбактам и плазомицин могут использоваться для лечения инфекций, вызванных Enterobacteriaceae [185].

Инфекция СДС является основным фактором, способствующим нетравматическим ампутациям нижних конечностей. Однако соответствующие данные скудны, и наблюдается заметное отсутствие рандомизированных контролируемых испытаний, оценивающих эффективность этих агентов в этой области. В ожидании более существенных доказательств цефидерокол и далбаванцин, прошедшие более всестороннее обследование у пациентов с костными инфекциями, могут представлять собой привлекательный выбор для тщательно отобранных лиц с тяжелой инфекцией диабетической стопы [185].

Наличие полирезистентных микроорганизмов (ПРМ) значительно осложняет течение гнойно-некротических процессов. Установлено, что их присутствие увеличивает риск выбора ампутации как метода оперативного лечения в 2,2 раза, а вероятность неудовлетворительного заживления послеоперационных ран в стационаре – в 3,4 раза. На амбулаторном этапе лечения до 40% ран, инфицированных ПРМ, характеризуются глубоким поражением тканей с вовлечением костных структур (остеомиелит). При этом

даже при строгом соблюдении всех стандартов консервативной терапии заживает не более 60% таких ран, а средняя продолжительность их заживления составляет 27,6 недель. Для сравнения, неинфицированные послеоперационные раны заживают в среднем за 7,4 недели [23].

Учитывая трудности в определении ответственных видов при полимикробных инфекциях, целостный подход к лечению таких инфекций имеет решающее значение.

Склонность инфекций к хронизации, рецидивирующему или молниеносному течению, высокий риск развития осложнений, а также частое присоединение полирезистентных микроорганизмов (ПРМ) подчеркивают важность активного внедрения профилактических мер.

Перспективы решения проблемы видятся в разработке комплексных программ. Особую значимость приобретает создание персонализированных алгоритмов ведения пациентов, учитывающих как локальные особенности антибиотикорезистентности, так и индивидуальные метаболические характеристики больных, применение. Только такой многоуровневый подход, разрабатываемый в диссертации, может обеспечить существенный прогресс в борьбе с антибиотикорезистентностью при синдроме диабетической стопы.

1.6. Бактериофаги – постантибиотическая эра

Терапия бактериальных инфекций по-прежнему остается одной из актуальных задач здравоохранения во всех странах мира. В современной клинической практике прослеживается отчетливая тенденция к изменению спектра возбудителей инфекционных заболеваний, увеличению количества штаммов микроорганизмов, резистентных к антибактериальной терапии, а также возникновению атипичных, стертых форм течения болезни на фоне вторичного иммунодефицита и развития сопутствующей грибковой инфекции. Типичные ошибки при проведении антибактериальной терапии заключаются в неправильном выборе препарата, неверном пути введения и выборе дозы,

преждевременном прекращении или нарушении схемы приема антибиотика [17].

Самолечение и нередко необоснованное назначение антибактериальных препаратов специалистами первичного звена приводят к формированию у пациентов антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, что в свою очередь, увеличивает вероятность хронизации острого процесса и развития грозных осложнений. Перечисленные обстоятельства крайне отрицательно сказываются на эффективности антибактериального лечения инфекционных заболеваний. В настоящее время проблема усугубляется еще и тем, что некоторые полирезистентные бактерии (прежде всего энтеробактерии, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и карбапенемазы) стали распространяться во внебольничную среду и становиться причиной внебольничных инфекций, что затрудняет проведение ранней адекватной антибактериальной терапии. Такие инфекции, связанные с риском полирезистентных возбудителей, относят к большой новой группе инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [51].

Так, по данным Европейского агентства по контролю над заболеваниями (ECDC) резистентность клебсиеллы (Klebsiella pneumoniae – возбудителя самых тяжелых бактериальных поражений легких) отмечается сразу к нескольким группам антибиотиков и только за три года (2021–2023) выросла с 6,2 до 8,1% [113].

Особую тревогу вызывает развитие комбинированной резистентности у клинически значимых микроорганизмов, в частности, одновременная устойчивость к карбапенемам и колистину, что существенно ограничивает возможности антимикробной терапии. Согласно последним исследованиям, эта проблема приобретает угрожающие масштабы. Параллельно отмечается неблагоприятная динамика роста антибиотикорезистентности у Escherichia coli, что дополнительно осложняет клиническую практику [33].

По данным Всемирной организации здравоохранения, только 50% пациентов можно вылечить с помощью препаратов, находящихся в обращении.

Из-за супербактерий – микроорганизмов, устойчивых к различным видам антибиотиков, ежегодно погибают 200 тысяч новорожденных. Аналитики подсчитали, что к 2050 году экономический ущерб от супербактерий составит 100 триллионов долларов. К этому времени супербактерии унесут жизни 360 миллионов человек. Антибиотикорезистентность – настоящий бич нашего времени с тенденцией к распространению в геометрической прогрессии [42, 229].

Российские национальные рекомендации послужили основой для разработки программы «Стратегия контроля антимикробной терапии» (СКАТ) для стационаров и началом ее активного внедрения и реализации в различных медицинских организациях России. В основные цели СКАТ входят: оптимизация применения АМП в стационарах РФ и сдерживание антибиотикорезистентности [31].

Для обеспечения реализации национального плана действий в РФ на уровне была разработана «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года», утвержденная Распоряжением Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р [55]. Целью Стратегии является повышение эффективности профилактики и лечения инфекций, вызванных лекарственно-устойчивыми штаммами микроорганизмов. Одна из задач Стратегии направлена на создание новых альтернативных антибиотикотерапии методов лечения и профилактики инфекционных болезней.

Одним из инновационных подходов к уничтожению патогенных бактерий практически во всех без исключения отраслях производственной деятельности человека являются вирулентные бактериофаги с широким спектром литической активности, элиминирующие как чувствительные к антибиотикам, так и лекарственно устойчивые штаммы бактерий. Несмотря на то, что в последнее время интерес к изучению бактериофагов возрос, реально фаготерапией занимаются лишь в немногих странах: в Польше в рамках экспериментального лечения, в Бельгии в рамках военной медицины, в Грузии – центр фаготерапии,

где получают лечение больные из США и Европы. В России бактериофаги официально одобрены, производятся в промышленном масштабе и разрешены для применения в клинической практике [12,49]. Кроме Тбилиси, на территории бывшего СССР в промышленном масштабе бактериофаги выпускают в Нижнем Новгороде, Уфе, Перми и некоторых других городах. Сегодня эти предприятия вошли в состав ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, который является единственным производителем бактериофагов как фармацевтических препаратов в России [26].

Бактериофаги (с древнегреч. – «пожирающие бактерии»), или просто фаги, – это вирусы, способные поражать бактерии. По типу взаимодействия бактериофага с чувствительной клеткой традиционно различают 2 типа фагов: умеренные и вирулентные. Вирулентные фаги способны автономно реплицироваться в цитоплазме клетки хозяина и, как правило, быстро вызывают ее лизис. Умеренные фаги интегрируются в бактериальную хромосому и размножаются синхронно с клеткой-хозяином, не вызывая лизиса долгое время. В механизмах формирования патогенных свойств у бактерий принимают участие в основном умеренные фаги. Действительно, бактериофаги представляют собой один из основных подвижных генетических материалов. Посредством трансдукции они привносят в бактериальный геном новые гены. Известно, что за 1 секунду могут быть инфицированы 1024 бактерий [60,107]. Это означает, что постоянный перенос генетического материала распределяется между бактериями, обитающими в сходных условиях. Очень важным свойством бактериофагов является их специфичность: бактериофаги лизируют культуру определенного вида. Более того, существуют так называемые типовые бактериофаги, лизирующие варианты внутри вида. Также встречаются поливалентные бактериофаги, которые паразитируют в бактериях разных видов [44]. Такое разнообразие биологических свойств бактериофагов диктует необходимость более глубокого изучения вопросов, связанных с рациональным подходом к фаготерапии. Одним из путей снижения риска распространения нежелательных генов при участии лечебных бактериофагов является

применение для фаготерапии исключительно вирулентных фагов. Для этого необходимо обязательно проводить определение чувствительности штаммов, выделенных от конкретного больного, к лечебным бактериофагам. Эта процедура не менее важная, чем определение чувствительности возбудителя к антибиотикам [53].

Бактериофаги можно с успехом применять для борьбы с инфекциями, в патогенезе которых играет роль формирование бактериями биологических пленок, в составе которых микроорганизмы более устойчивы к воздействию клеточного и гуморального иммунитета и антибиотикам. В настоящее время растет число публикаций, посвященных роли бактериофагов в разрушении биопленок. Накоплен значительный опыт, свидетельствующий о возможности применения фагов одновременно с другими антимикробными препаратами. По мнению некоторых авторов, перспективным в плане предупреждения формирования антибиотикорезистентных штаммов является сочетанное применение фагов и антибиотиков [27]. В исследовании Бондаренко А.В. и соавт. признано оптимальным сочетанное использование антибиотика и бактериофага в предоперационном и раннем послеоперационном периодах [8]. В данном исследовании отмечается, что применение стафилококкового бактериофага одновременно с антибиотиками позволило снизить частоту находок MRSA с 26,4 до 7,7%.

Основными критериями определения лечебной и микробиологической эффективности препаратов бактериофагов, на основании которых врач может объективно оценить результат проведенной фаготерапии, являются:

а) лечебная эффективность, т.е. полное исчезновение всех субъективных и объективных клинических признаков заболевания, уменьшение клинических проявлений или отсутствие прогрессирования по данным объективных методов исследования;

б) микробиологическая эффективность оценивается после завершения курса фаготерапии и через 3-4 недели после проведения курса лечения и определяется как элиминация возбудителя – прекращение высева (выявления)

возбудителя из очага первичной локализации инфекции. Преимущества бактериофагов перед антибиотиками, которые при рациональном подходе к использованию бактериофагов позволяют с уверенностью рекомендовать фаготерапию как перспективный метод лечения и профилактики инфекционных заболеваний: способность уничтожать бактерий, устойчивых к антибиотикам и защищенных биопленками; способность свободно проникать в кровь и лимфу и выводиться через почки с мочой. Как показано в ряде исследований, после приема 30 мл бактериофага уже через два часа фаговые частицы обнаруживают в моче, их концентрация в ней достигает максимума спустя 6–8 часов после приема [13**,** 62]; не вызывают побочных эффектов и аллергии.

Все случаи аллергических реакций при использовании терапевтических бактериофагов были вызваны либо примесями в препарате откоторых был недостаточно очищен, либо токсинами, выделяющимися при массовой гибели бактерий (такое явление – реакция Яриша-Герксгеймера – может наблюдаться и при применении антибиотиков); не подавляют рост нормофлоры, не ослабляют иммунитет; подходят для пациентов любого возраста, нет противопоказаний; применение как в виде монотерапии, так и в сочетании с антибиотиками, что значительно снижает риск селекции резистентных штаммов бактерий; использование для санации лечебно-профилактических учреждений и для борьбы с госпитальными инфекциями; возможность применения для предупреждения инфекционных болезней в эпидемических очагах – вводить лицам с высоким риском заражения и имевшим контакт с больными.

Возможность применения бактериофагов в стационаре не должна рассматриваться в виде монотерапии инфекционного очага. Подходы к лечению вирулентными бактериофагами необходимо использовать в совокупности с антибактериальными средствами в различных ситуациях. У пациентов с характером фатального инфекционного процесса, отсутствием времени для определения чувствительности и подбора препаратов на первом этапе наиболее правильным решением будет применение антибиотиков

широкого спектра действия. После стабилизации процесса и получения результатов чувствительности, в том числе к батериофагам, антимикробная терапия может быть уточнена и расширена. В ситуациях хронической инфекции, инфекции, вызванной бактериями с полирезистентным бактериальным штаммом к антибиотикам, предпочтение следует отдавать фаготерапии с таргетной направленностью, которая может стать единственным спасением [25].

Анализ современных литературных данных подтверждает, что инфекции при синдроме диабетической стопы остаются одной из наиболее актуальных и сложных проблем современной медицины. Они нередко осложняются развитием тяжёлых гнойно-некротических процессов, приводящих к ампутации нижних конечностей и высокой летальности. Особенно тревожным является тот факт, что значительная часть таких инфекций вызвана полирезистентными микроорганизмами, устойчивыми к большинству доступных антибиотиков.

На этом фоне всё большее внимание уделяется бактериофаготерапии, которая рассматривается как одно из перспективных направлений в постантибиотиковую эру. Высокая специфичность, способность разрушать биопленки и безопасность применения делают бактериофаги особенно привлекательными для лечения инфекций у пациентов с СДС. Однако, несмотря на имеющийся данные и отдельные клинические успехи, остаётся значительный пробел в изучении их практическом применении при СДС.

На сегодняшний день отсутствуют исследования, позволяющие определить оптимальные режимы использования фагов, их сочетание с антибиотиками, а также влияние на клинические исходы - заживление ран. Таким образом, проведение настоящей диссертационной работы имеет высокую научную и практическую значимость, поскольку направлено на заполнение данного пробела и разработку новых стратегий лечения пациентов с полирезистентной инфекцией диабетической стопы. Полученные результаты могут стать основой для внедрения бактериофаготерапии в клиническую

практику и формирования современных рекомендаций по управлению данной категорией больных.

1.7. Низкотемпературная аргоновая плазма в лечении инфекций СДС

Язвы стоп встречаются у 5 – 15% больных СД. Риск госпитализации среди пациентов с инфекционными осложнениями диабетической стопы в 56 раз, а риск ампутации в 155 раз выше, чем у пациентов, не страдающих диабетом [156].

Присоединение инфекции приводит к развитию гнойно-некротического процесса, который более чем в 70% случаев заканчивается ампутациями. Смертность больных СДС в ближайший послеоперационный период очень высока и достигает 9,1% среди всех пациентов, а после высоких ампутаций на уровне бедра более 30% [71].

Особенно высок риск ампутаций у пациентов, уже перенесших оперативное лечение СДС [119]. Так, у половины пациентов после оперативного вмешательства на уровне стопы в течение первого года вновь развивается гнойно-некротический процесс, требующий дополнительного оперативного лечения. У большинства пациентов послеоперационные раны остаются открытыми и долго заживают вторичным натяжением, поэтому неудивительно, что в условиях ОМС долечивание послеоперационных ран проходит уже амбулаторно [11]. Вместе с тем, в 44,8% случаев повторных ампутаций, они выполняются в связи с рецидивом инфекции на месте открытых ран после ранее проведенных операций [71].

Заживление ран представляет собой жестко регулируемый процесс, включающий воспалительную фазу, включая гемостаз, за которой следует пролиферативная фаза с окончательным переходом в фазу ремоделирования.

Бактериальная инфекция или колонизация могут способствовать устойчивому привлечению лейкоцитов, которые сохраняют воспалительное состояние.

Таким образом, изучение факторов, влияющих на течение раневого

процесса и сроки заживления ран (язв) у больных с гнойно-некротическими формами СДС очень важен для совершенствования эффективности лечения осложнений СДС.

НТАП содержит сверхчастотное излучение (ультрафиолетовый, видимый и инфракрасный спектр излучения), а также потоки свободных электронов, ионов, продуктов взаимодействия плазменного луча с окружающим воздухом и образование ряда химических соединений в результате воздействия на биологические ткани [37].

Ионизированный аргон практически не контактирует с биоматериалом, возвращаясь в инертное состояние. При этом выделяется энергия в виде излучения, которое поглощают молекулы кислорода и азота, образуя молекулы активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) (например, озон – O_3). При этом, благодаря особенности образования АФК и АФА (поглощение частицами фотонов), свободные радикалы, имеющие высокую химическую активность и при соприкосновении с клетками и тканями, приводящие к их разрушению, не образуются. Именно использование аргона в качестве плазмообразующего газа исключают негативное воздействие, связанное с наличием свободных радикалов.

Важным фактором воздействия НТАП является не только наличие всех перечисленных составляющих, но и их синергетический эффект при одновременном воздействии. Так, низкотемпературная плазма заметно повышает проницаемость клеточных мембран, что в ряде случаев может стимулировать проникновение в клетку сигнальных молекул, активирующих ионов (в частности, ионов калия, кальция и магния), и таким образом запускать разные формы клеточной активности [10].

Холодная атмосферная плазма (ХАП) была предложена в качестве инструмента для различных биологических и медицинских применений из-за ее способности снижать бактериальную нагрузку в ране и инициировать заживление ран. В дополнение к таким примечательным характеристикам ХАП, как наличие заряженных частиц; свободные электроны и ионы; тепловое,

видимое и УФ-излучение; электрические поля, генерация высокоактивных частиц в интересующем участке может напрямую функционировать как сигнальные или окислительно-восстановительные молекулы. Биологические эффекты НТАП во многом зависят от генерируемых плазмой реактивных частиц в газовой фазе, которые диффундируют или реагируют с белками и липидами клеток или тканей. Ожидается, что активные формы кислорода, такие как озон, гидроксильные радикалы, супероксид и синглетный кислород, а также активные формы азота, такие как оксид азота или пероксинитрит, будут действовать как активные соединения [111].

Плазма – это форма ионизированного газа, которая имеет высокую концентрацию заряженных частиц (OH-, H_2O+ и электронов), реактивных химических веществ (свободных радикалов кислорода или «СРК» и реактивных форм азота или «СРА»), возбужденных молекул и УФ-фотонов [188]. Физико-химические свойств плазмы зависят от множества факторов, включая вид используемого газа или смеси газов, а также применяемую энергию, давление и атмосферу [219].

Все знают о трёх агрегатных состояний вещества: твёрдое, жидкое и газообразное. Плазму в свою очередь называют четвёртым агрегатным состояния вещества – имеющая место при высоких температурах в цепочке превращений: твёрдое тело – жидкость – газ – плазма. Газ представляет собой поток нейтрально заряженных атомов или молекул, основная часть которых имеет определённую или же наиболее вероятную скорость, обусловленную функцией распределения Максвелла. Атомы или молекулы двигаются в пространстве и если и соударяются друг с другом, то при обычных (допустим комнатных) температурах такие соударения будут упругими, то есть не будут вызывать образования новых частиц, диссоциаций (распад молекул на атомы) или ионизации (процесс отрыв электрона от атома). Однако с повышением температуры растёт и количество соударений, и их энергия, атомы и молекулы двигаются быстрее и с большей энергией соударяются всё больше и больше взаимодействует друг с другом. И если газ представляет из себя

взаимодействие нейтральных частиц, которое не столь велико, а с увеличением расстоянием между частицами и вовсе практически не заметно, то плазма в свою очередь представляет из себя взаимодействие заряженных частиц (описанные в силе Кулона), и при этом гораздо медленнее убывает с увеличением расстояния. Именно этот сильнодействующий и дальнодействующий характер сил между заряженными частицами и описывает «Плазменное состояние вещества».

Любой ионизированный газ представляет собой частицу, несущую большую кинетическую энергию, которая превышает его кинетическую энергию в состоянии покоя. Поэтому такая частица будет стремиться тем или иным образом избавиться от лишней энергии. Это может быть реакция с другими частицами, выделения тепла или излучение (инфракрасное, видимое излучение, ультрафиолетовое или радиоактивное). Так как сам процесс плазмообразования связан с большими энергетическими затратами в виде «разогрева газа» для его ускорения, в основном такие системы высвобождают эту энергию в виде рекомбинационного излучения. Применение аргона в качества газа, переходящего в состояние плазмы, обусловлено способностью инертных газов концентрировать всю избыточную энергию частицы в интересующее нас рекомбинационное излучение, в отличие от частиц, находящихся в воздухе, которые могут образовывать достаточно стабильные отрицательно заряженные ионы, способные реагировать с другими частицами (атомами или молекулами), образовывая новые молекулы. Именно, благодаря использованию Аргона в низкотемпературной аргоновой плазме можно получить ультрафиолетовое излучение от дальнего спектра (длина волны равная 100 нм), с достаточной энергией, которая при нужной экспозиции и расстоянии до поверхности губительна для патогенных микроорганизмов и обладает стимулирующим действием на клетки раны [129].

Для получения низкотемпературной плазмы применяются плазмотроны, устройства в которых электрическая энергия преобразуется в ионизацию частиц рабочего вещества и энергию частиц плазмы. Получаемая в

плазмотронах плазма имеет электронную температуру, которая не превышает 10 эВ (<105 К), скорость ее частиц обычно не выше 104 м/с, а кинетическая энергия ионов не более 10 эВ/нуклон.

Плазмотрон аппарата «ПлазмоРан» в ходе плазмообразования формирует рекомбинационное излучение (в области спектра от вакуумного ультрафиолета до ближнего инфракрасного спектра), активные формы кислорода, в том числе атомарный кислород, азот, поток газа аргона с высоким теплосодержанием. Совокупность этих физических факторов оказывает лечебное воздействие на осложненное течение раневого процесса.

Образуемый ультрафиолет в области спектра 100-400 нм имеет ярко выраженный бактерицидный эффект, механизмы которого включают:

1. разрушение и повреждение ДНК и РНК;
2. пероксидазное окисление липиды мембран, белков и ДНК;
3. целостное повреждение клеточных мембран;
4. нарушение клеточного метаболизма;
5. нарушение репарационных механизмов.

В процессе плазмообразования аргоновая плазма, даже будучи инертной, создает условия для различных физических и химических преобразований частиц в воздухе, которые благодаря турбулентному потоку попадают в высокоэнергетическую зону излучения. В качестве таких преобразований присутствует: ионизация и диссоциация молекул в воздухе, которые приводят к образованию озона, атомарного кислорода и оксида азота.

Образование озона:

$O_2+h\nu(<240\ нм)\rightarrow 2O^*$

$O+O_2\rightarrow O_3$

Разрушение озона

$O_3+h\nu(240-310\ нм)\rightarrow O_2+O^*$

Образование оксида азота (II)

$O_2+h\nu\rightarrow 2O^*$

$N_2+ h\nu \rightarrow 2N^*$

Эти атомы и ионы могут затем участвовать в образовании новых соединений, таких как оксид азота NO. Помимо образования экзогенного монооксида азота, генерируемый спектр УФ излучения воздействует на кожу с последующим высвобождением монооксида азота. Основные механизмы при этом [115,166, 186, 191]:

1. фотохимическая реакция в коже;

УФ-излучение способствует высвобождению NO из нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-), которые накапливаются в коже, при помощи следующей реакции:

Нитраты, поступающие в организм с пищей (например, из овощей, таких как свёкла или шпинат), могут накапливаться в коже и под действием УФ-излучения превращаться в нитриты, а затем в NO.

2. высвобождение NO из запасов;

В коже присутствуют запасы NO в форме нитрозотиолов (S-нитрозотиолов) и других соединений. УФ-излучение способствует их распаду с высвобождением NO при помощи следующих механизмов [168, 191]:

1. активация NO-синтазы, фермента, который катализирует образование оксида азота (NO) из аминокислоты L-аргинина, кофакторами в реакции выступают NADPH, через увеличение кальция: УФ-излучение может вызывать временное увеличение внутриклеточной концентрации кальция (Ca^{2+}), который является кофактором для активации эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS). Активированная eNOS увеличивает образование NO из аргинина;

2. стимуляция синтеза синтазы оксида азота **(**NOS): УФ-излучение может стимулировать экспрессию генов, кодирующих NOS, что приводит к увеличению количества фермента и, соответственно, к усилению образования NO;

3. снижение окислительного стресса: УФ-излучение в умеренных дозах может активировать антиоксидантные системы организма, что снижает уровень окислительного стресса. Это важно, так как окислительный стресс

подавляет активность NOS и разрушает NO;

4. косвенное влияние через витамин D: УФ-излучение способствует синтезу витамина D в коже. Витамин D, в свою очередь, может модулировать активность NOS и увеличивать образование NO.

Образуемое ультрафиолетовое излучение (УФ) также может стимулировать пролиферацию фибробластов через несколько механизмов, связанных с клеточной сигнализацией и реакцией на окислительный стресс. Основные пути, через которые ультрафиолетовое излучение влияет на фибробласты, включают:

1. генерация активных форм кислорода (АФК): УФ проникает в кожу и поглощается хромофорами (например, NADH, NADPH, флавины), что приводит к образованию активных форм кислорода (АФК), таких как супероксидные радикалы, перекись водорода и синглетный кислород. АФК активируют сигнальные пути, такие как MAPK/ERK и PI3K/AKT, которые регулируют пролиферацию и выживаемость клеток;

2. активация факторов транскрипции: УФ-индуцированный окислительный стресс может активировать факторы транскрипции, такие как NF-κB и AP-1, которые регулируют экспрессию генов, связанных с пролиферацией и воспалением.;

3. стимуляция синтеза внеклеточного матрикса: УФ может усиливать экспрессию коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса через активацию TGF-β и других факторов роста. Это может косвенно стимулировать фибробласты к пролиферации, так как они играют ключевую роль в ремоделировании матрикса;

4. изменение клеточного цикла: УФ может влиять на регуляцию клеточного цикла, способствуя переходу клеток из G1 в S-фазу, что приводит к увеличению пролиферации. Однако при высоких дозах UVA может вызывать повреждение ДНК и остановку клеточного цикла или апоптоз;

5. влияние на цитокины и факторы роста: УФ может стимулировать выработку цитокинов (например, IL-1, IL-6) и факторов роста (например,

VEGF, FGF), которые способствуют пролиферации фибробластов и ангиогенезу [169,179,192,215,231].

Одним из основных физических явлений НТАП, который можно статистически достоверно измерить и сравнить, является ультрафиолетовое излучение.

В ходе вышесказанного, всякая обработка раневой поверхности характеризуется накоплением энергии – энергетической освещённости (Дж/м^2, или Вт/м^2*с), которая представляет из себя интенсивность генерируемого в процессе плазмообразования ультрафиолетового излучения.

Плазмотрон аппарата «ПлазмоРан» в ходе плазмообразования генерирует ультрафиолет который можно разделить на 3 основных измеряемых спектра:

Зона УФА: 400-315 нм

Зона УФВ: 315-280 нм

Зона УФС: 280 – 100 нм

Каждый спектр характеризуется собственным значением энергетической освещённости, который зависит от расстояния: от точки плазмообразования до обрабатываемой поверхности. Поверхность в процессе обработки «накапливает» энергию, при достаточном «накоплении энергии» реализуются антимикробные и биологические эффекты в тканях.

Результаты применения НТАП при лечении ТЯ при СДС

Антимикробное действие НТАП при лечении инфекций СДС

In vitro и первоначальные клинические исследования хронических ран на животных и людях показали, что НТАП снижает бактериальную нагрузку и способствует заживлению без каких-либо значительных побочных эффектов на нормальные ткани. Кроме того, было обнаружено, что НТАП способствует трансформации хронической раны из застойной или острой раны посредством модуляции воспаления, стимуляции различных факторов роста (например, тех, которые связаны с ангиогенезом/неоваскуляризацией) и взаимодействие ткане-реактивных веществ (например, оксида азота (NO), гидроксила (OH) и атомарного кислорода (O)) [178].

Недавнее исследование проверило эффективность и безопасность коммерческой системы DBD (Plasmacure) путем проведения экспериментов по бактерицидной эффективности и безопасности in vitro, а также бактерицидных экспериментов in vivo. Двухминутная обработка Staphylococcus aureus в коллагеново-эластиновых матрицах привела к снижению на 4-log10 с меньшим снижением на образцах кожи. Обработки НТАП продолжительностью до 2 минут не влияли на клеточную активность или целостность ДНК образцов кожи человека. Однако повторные ежедневные 2-минутные процедуры НТАП вызывали статистически незначительное снижение клеточной активности образцов кожи до 80% через 2–4 дня, что указывает на то, что процедуры НТАП не оказывают негативного влияния на функцию кожи. В исследованиях in vivo добровольцы, получавшие лечение, сообщали об умеренной боли (числовая оценочная шкала 3,3 по 10-балльной шкале), но считали процедуру приемлемой. Лечение НТАП временно повышало местную температуру кожи (≈3,4°C) и эритему, которая уменьшалась с уменьшением мощности плазмы. Применение НТАП на неповрежденной коже, искусственно контаминированной Pseudomonas aeruginosa, вызывало умеренную инактивацию бактериальной нагрузки у 14/15 добровольцев. Это значение обеспечивает верхнюю границу ожидаемой эффективности, поскольку кровь, экссудат и клеточный детрит будут защищать микроорганизмы от НТАП в более сложной раневой среде [127].

В другом исследовании оценивалась антибактериальная эффективность аргоноплазменной струи в отношении Staphylococcus aureus в суспензии и биопленке. Обработка НТАП в течение 0–240 сек с последующей 15- или 120-минутной инкубацией вызывала небольшое снижение количества бактерий в планктонных условиях, но не влияла на биопленки. Непрямое воздействие НТАП на кератиноциты значительно снижало метаболическую активность. Добавление каталазы обратило эти эффекты вспять, что указывает на доминирующую роль перекиси водорода, генерируемой НТАП. Таким образом, хотя аргоноплазменная струя kINPen® MED не может быть эффективной

антибактериальной терапией только для ран, она может быть полезна в сочетании с другими методами лечения [127].

В последние годы устройства с холодной атмосферной плазмой (НТАП) прошли клинические испытания в качестве альтернативного метода лечения, позволяющего снизить бактериальную нагрузку и способствовать заживлению ран. Было показано, что различные плазменные устройства высокоэффективны против множества видов бактерий, включая клинически значимые патогены и бактериальные штаммы с множественной лекарственной устойчивостью, при этом накопления устойчивости к НТАП не наблюдалось [84].

Влияние НТАП на фибробласты

Фибробласты играют ключевую роль в заживлении ран. Из-за способности реактивных частиц, генерируемых плазмой, стимулировать различные клетки, было проведено исследование по эффективности применения различных плазменных потоков для стимулирования пролиферации фибробластов. Подробный анализ с использованием сигнала 15 кВ, 60 Гц с различными соотношениями N_2 и N_2+O_2 показал, что 15-секундная обработка N2/(N2+O2) на 70% увеличивает дифференцировку фибробластов.

НТАП также влияет на рецепторы адгезии на поверхности клеток, структурные белки и транскрипцию генов, связанных с различными маркерами дифференцировки, одновременно усиливая оксигенацию и перфузию тканевого гемоглобина поверхностного слоя кожи [127].

Влияние НТАП на цитокины и факторы роста

После травмы различные клетки взаимодействуют друг с другом, координируя сложный процесс заживления ран. В этом процессе доминируют два различных типа клеток. Кератиноциты и фибробласты активируют аутокринные и паракринные механизмы, секретируя различные цитокины и факторы роста. Поврежденные кератиноциты секретируют провоспалительные цитокины, такие как IL-1 и IL-6, и стимулируют трансформирующий фактор роста α (TGF-α). Исследования показали, что обработка плазмой индуцирует экспрессию различных цитокинов, важных для заживления ран, и факторов

роста в кератиноцитах и фибробластах, а также влияет на различные клеточные механизмы, важные для заживления ран.

Применение аргоновой плазмы частотой 50/60 Гц со скоростью потока 5,0 стандартных литра/минуту (сл/мин) в течение 2 минут ежедневно в течение 7 дней после индукции ожоговых ран у крыс Спрэг-Доули значительно снижало экспрессию провоспалительных цитокинов и повышало экспрессию антивоспалительных цитокинов, что очень важно, поскольку чрезмерное воспаление часто приводит к плохому заживлению ран, и соответствующий контроль цитокинов для организации внеклеточного матрикса имеет решающее значение. В частности, продуцируемые плазмой АФК изменяли экспрессию генов, участвующих в заживлении ран, включая TNFα, IL-1β, TGF-β, IL-10, IL-6, iNOS, VEGF, PDGFB, FGF-2, KGF-1 и ЭФР. Более того, НТАП также увеличивала экспрессию CD68, α-SMA, фибронектина и тенасцина-C и синтез коллагена. Таким образом, данное исследование продемонстрировало возможность использования НТАП для лечения ожоговых ран [127, 162].

Влияние НТАП на заживление раны в целом

Заживление ран характеризуется взаимодействием различных типов клеток, и это взаимодействие является предпосылкой для физиологического закрытия раны. Помимо иммунных и эндотелиальных клеток, эпидермальные кератиноциты и дермальные фибробласты представляют собой типы клеток, имеющие решающее значение для различных клеточных и молекулярных процессов во время заживления ран. Это сравнительное исследование было предварительно сосредоточено на влиянии плазмы на кератиноциты и фибробласты [35, 45, 82, 161, 203, 142].

Влияние НТАП на миграцию и пролиферацию клеток

Тип компонента НТАП, ответственного за модуляцию клеточных и молекулярных эффектов, пока неизвестен, но НТАП может положительно влиять на миграцию и пролиферацию клеток. Эффекты различаются в зависимости от источника плазмы и условий лечения. Однако важно отметить, что активируемая плазмой миграция или пролиферация обратимы. В этом

отношении исследования клеточных культур показали, что повышенная миграция фибробластов, вызванная 30-секундной обработкой MicroPlaSter, больше не была заметной через 72 часа после обработки. Обработка kINPen в течение 60 секунд лишь временно влияла на подвижность клеток в течение 48 часов. Кроме того, подвижность клеток значительно снизилась после повторных обработок плазмой (в течение 60 секунд два раза в неделю), что было частично обращено вспять после дальнейших окислительно-восстановительных испытаний [161].

Влияние плазмы на экспрессию коллагена и формирование матрикса

Заживление ран обычно можно разделить на три фазы: фазу воспаления, фазу грануляции (фазу пролиферации) и фазу реэпителизации в которой фибробласты, в первую очередь, участвуют в восстановлении разрушенной соединительной ткани в процессе фазы грануляции.

Анализы клеточных культур показали, что 2-минутная обработка плазмой MicroPlaSter существенно стимулирует экспрессию COL 1A1 в фибробластах и мобилизует активность фибробластов (индукция альфа-SMA) и сокращение коллагена. Обработка kINPen также индуцировала экспрессию COL 1 A1 и COL 14A1, содержание коллагеновых волокон и морфологические изменения в актиновом цитоскелете. Таким образом, исследования показывают, что плазма не только активирует фибробласты, но и участвует в дифференцировке фибробластов в миофибробласты. Миофибробласты играют ключевую роль в поддержании гомеостаза кожи, а также в организации физиологического восстановления тканей и сокращения ран [81,203].

Влияние плазмы на механизмы защиты

Острые раны и особенно хронические раны колонизированы большим количеством бактерий [39]. Исследования клеточных культур, моделей животных и клинические исследования острых и хронических ран показали, что плазма может значительно уменьшить количество микроорганизмов в ранах и, таким образом, вероятно, улучшить заживление ран. На антимикробную эффективность также могут влиять используемый источник

плазмы, состав компонентов плазмы, а также продолжительность и частота лечения. Помимо инфекционного контроля у людей, исследования с использованием MicroPlaSter и kINPen показали, что плазма может активировать иммунную систему организма. Исследования с использованием MicroPlaSter показали, что экспрессия β-дефенсинов (BD) BD2 и BD3 индуцируется плазмой. BD представляют собой небольшие пептиды длиной 33–47 аминокислот. У млекопитающих BD обнаруживаются на многочисленных поверхностях кожи и слизистых оболочек для защиты от микробных патогенов, особенно бактерий, а также грибов и токсинов. Мы предположили, что активация этой молекулярной группы может способствовать антисептическому эффекту плазмы in vivo, однако эта гипотеза пока не подтверждена [137, 227].

Многочисленные исследования показали, что обработка плазмой стимулирует и изменяет окислительно-восстановительный баланс клеток кожи. Более того, плазма действует как мощный индуктор иммунного ответа, вызывая одновременно воспалительную и противовоспалительную окислительно-восстановительную реакцию. При ранении нейтрофилы являются первой линией защиты от вторжения микроорганизмов; нейтрофилы могут быть провоспалительными и ограничивать воспаление за счет разрушения цитокинов и хемокинов. Регуляция воспаления является ключевым элементом многих хронических заболеваний. В моноцитах человека THP-1 была обнаружена значительно повышенная экспрессия гемоксигеназы 1 (HMOX1) и аттрактанта нейтрофилов хемокина интерлейкина-8 (IL-8). Более того, было обнаружено, что ядерный эритроидный фактор 2 (Nrf2) и компоненты ферментативного пути фазы II действуют как ключевые контроллеры, управляющие клеточным ответом [234].

Сильная активация пути Nrf2, включая сверхэкспрессию HMOX1 и НАДФН-хинон-оксидоредуктазы 1 (NQO1), была получена в кератиноцитах после обработки плазмой. В клетках кожи запускались гормезисоподобные процессы вместе с общей модуляцией антиоксидантной системы (например,

CAT, SOD, PRDX и GPX). В связи с тем, что процессы заживления ран контролируются окислительно-восстановительными реакциями, использование холодной плазмы, генерирующей АФК и РНС, является логическим следствием и связывает плазменную медицину с заживлением ран [203,206].

Влияние НТАП на раневой ангиогенез

Ангиогенез, рост новых кровеносных сосудов из существующих, является физиологическим процессом, важным не только в эмбриогенезе, но также во время роста и заживления ран. Недостаточная васкуляризация ухудшает заживление ран у пациентов с диабетом и системным склерозом, а также у пациентов, получающих иммунодепрессанты, химиотерапию или лучевую терапию. Формирование новых кровеносных сосудов стимулируется различными эндогенными проангиогенными факторами, не только факторами роста (например, VEGF, EGF, FGF и TGF) и цитокинами (например, IL-1, 2, 6, 8; TNF), но и активными формами кислорода (АФК) и активными формами азота (АФА) [94, 121].

Обычно генерируемый АФА включает оксид азота - сильный сосудорасширяющий агент. Индуцибельная синтаза азота (iNOS), катализирующая выработку NO, резко активировалась после обработки kINPen, что способствовало образованию микрососудов. Предварительные результаты in vivo подтвердили проангиогенные эффекты через 6 и 15 дней после обработки плазмой на модели полнослойной раны уха мыши [82, 203].

С помощью MicroPlaSter CD31-положительная сосудистая сеть была ускорена на модели полнослойной раны у мышей. Кроме того, анализы формирования трубочек с использованием эндотелиальных клеток HUVEC показали увеличение количества трубочек после обработки плазмой в течение 30 секунд [138, 170].

Более того, онтология генов показала, что обработка НТАП индуцировала высвобождение 16 белков, что также характерно для активации тромбоцитов. Хотя в исследовании не использовался положительный контроль активации тромбоцитов, такой как современный бычий тромбин, результаты НТАП

предполагают модификацию функции тромбоцитов, которая может быть полезна для лечения ран и хирургических операций [98, 154].

Сокращение площади раны

Как в группах стандартного лечения (СЛ), так и в группах СЛ + НТАП доля размеров ран со временем значительно уменьшалась. Анализ данных с повторным измерением ANOVA показал, что, хотя время было значительно эффективным в уменьшении доли размера раны ($F (1,2, 51,9) = 30,8$, $p <0,0001$), все же существовала значительная разница в пользе различных протоколов лечения (СЛ= $0,85 \pm 0,09$ [среднее ± SEM] по сравнению с СЛ + НТАП $= 0,5 \pm 0,09$; $F (1, 42) = 5,4$, $p = 0,02$). Кроме того, фракцию размера раны рассчитывали с помощью логарифмического возврата, чтобы избежать возможной статистической ошибки в зависимости от процентных изменений. Эти результаты снова показали значительное влияние времени ($p <0,0001$) и лечения ($p = 0,03$) на уменьшение доли размера раны [228].

Важным результатом этого исследования является то, что через три недели количество ран, достигших фракции размера раны ≤0,5, было значительно больше в группе СЛ + НТАП по сравнению с группой СЛ (СЛ = 36,4% по сравнению с СЛ + НТАП =77,3% от общего числа случаев в каждой группе, хи-квадрат с одной степенью свободы =7,5, p=0,006). Это число значимо не отличалось между двумя группами при первом (p=0,21) и втором (p = 0,19) визитах. В двух группах лечения вероятность уменьшения фракции размера раны ≤0,5 была в 5,95 раза выше у лиц с СЛ + НТАП (OR = 0,168; 95% CI = 0,04–0,63) [201].

Исследование 65 язв диабетической стопы у 45 пациентов показало, что, струя аргоновой плазмы вызывала статистически значимо большее уменьшение площади раны по сравнению с лечением плацебо. И НТАП, и плацебо снижали микробную нагрузку, хотя изменения не были статистически значимыми. Отсутствие статистической значимости, скорее всего, связано с тем, что все раны подвергались стандартным процедурам ухода за ранами, таким как системное лечение антибиотиками, если указано, и регулярная обработка раны,

что может маскировать антимикробный эффект НТАП. Хотя потребуются дальнейшие исследования для изучения потенциальной синергетической инактивации этих методов лечения с НТАП в снижении микробной нагрузки, результаты обнадеживают в отношении заживления ран [139].

Одной из наиболее частых и сложных проблем для пациентов с язвами диабетической стопы являются трудности с заживлением ран. Повторные инфекции и длительно незаживающие раны ухудшат здоровье населения и нанесут значительный экономический ущерб. В последние годы плазменная медицина превратилась в инновационную область медицинских исследований. НТАП является одним из лучших источников плазмы для обработки живых поверхностей, и было обнаружено, что она обладает противовоспалительным, противомикробным и противоопухолевым действием. НТАП может способствовать заживлению ран благодаря своему специфическому механизму действия, не вызывая повреждения тканей человека, ускоряя заживление ран у животных с диабетом, приводит к образованию эпидермиса, неоваскуляризации и пролиферации клеток, а также увеличивает высвобождение трансформирующего фактора роста. Группа исследователей заявила, что лечение НТАП может ускорить заживление язв диабетической стопы за счет регулирования уровня воспалительных факторов и бактериальной нагрузки, в то время как другое исследование показало, что НТАП является эффективным вариантом лечения язв диабетической стопы с точки зрения уменьшения ран и антибактериального эффекта [101, 203].

Анализ современных литературных данных свидетельствует о том, что низкотемпературная аргоновая плазма (НТАП) обладает выраженным антимикробным эффектом и способностью стимулировать репаративные процессы, что делает её перспективным методом в лечении инфекций синдрома диабетической стопы.

Однако, несмотря на обнадёживающие результаты отдельных исследований, остаётся очевидной недостаточная изученность применения низкотемпературной аргоновой плазмы именно у пациентов с СДС. На

сегодняшний день отсутствуют системные клинические исследования, позволяющие объективно оценить её эффективность в зависимости от тяжести инфекции, типа возбудителя, наличия ассоциаций в условиях панрезистентности. Также недостаточно данных о долгосрочных исходах лечения, включая частоту рецидивов, необходимость повторных хирургических вмешательств и уровень ампутаций.

Кроме того, до сих пор не разработаны стандартные протоколы применения НТАП: не определены оптимальные режимы воздействия, длительность курса при лечении СДС и полирезистентной инфекции.

Именно поэтому проведение настоящей диссертационной работы имеет чрезвычайно высокую научную и практическую значимость. Исследование направлено на изучение НТАП в комплексном лечении больных с инфекциями СДС. Полученные результаты могут стать основой для внедрения данного метода в повседневную клиническую практику и формирования новых рекомендаций по управлению трудноизлечимыми и полирезистентными инфекциями у данной группы пациентов.

ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Медико-социальная характеристика больных

Под наблюдением находились 507 пациентов с диагнозом «синдром диабетической стопы, осложненный трофическими язвами», которые проходили лечение в филиале № 3 ФГКУ «321 Военный клинический госпиталь» Минобороны России в период с 2006 по 2016 г., филиале № 1 и основной базе ФГБУ «НМИЦ ВМТ им. А.А. Вишневского» Минобороны России, ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского с 2016 г. по 2024 г. Возрастной диапазон обследуемых больных был от 35 до 72 лет. Все пациенты были разделены на 2 группы: группа 1 – 257 пациентов, у которых по результатам микробиологического посева из трофической язвы подтверждена полирезистентная микрофлора с клинически значимым микробиологическим числом не менее 10^5 КОЕ/л (ПРМ+), и группа 2 (клинического сравнения) общей численностью 250 человек, у которых по результатам микробиологического посева из раны или трофической язвы полирезистентная микрофлора не высевалась. От всех пациентов было получено письменное согласие на участие в исследованиях, протокол которого согласован с этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ВМТ им. А.А. Вишневского» Минобороны России (протокол № 7 от 03.09.2016). В исследование были включены пациенты с синдромом диабетической стопы, осложненным гнойными ранами и трофическими язвами II-III степеней (классификация WIFI) и требующих хирургическоголечения.

Анализ анамнестических данных проводили с учетом жалоб и возраста больных, преморбидного фона, сопутствующих заболеваний, факторов риска, типов сахарного диабета, стадии компенсации диабета, данных медикаментозной коррекции гликемии, длительности заболевания СД, а также характера течения осложнений.

Регистрация полученных в ходе исследований количественных и качественных показателей осуществлялась в виде персональных

информационно-регистрационных карт (ИРК), которые велись по каждому пациенту, принимающему участие в исследовании.

ИРК содержит следующие данные:

- Номер участника исследования (ФИО были исключены в целях соблюдения анонимности);
- Даты поступления и выписки из ЛПУ;
- Возраст;
- Антропометрические показатели (рост, масса тела, индекс массы тела);
- Анамнез;
- Местный статус;
- Результаты лабораторных исследований, в том числе – общий анализ крови, биохимические исследования, общий анализ мочи, коагулограмма;
- Результаты гистологических исследований;
- Результаты бактериологических исследований;
- Результаты клинической оценки раны.
- Оценка венозного и артериального кровотока нижних конечностей

Критерии включения участников исследования:

- мужчины и женщины в возрасте 35-72 лет;
- наличие гнойно-некротической раны на фоне СДС;
- площадь раны 4 $см^2$ и более;
- нейропатическая инфицированная форма диабетической стопы.

Критерии исключения участников исследования:

- беременность или период лактации;
- гликированный гемоглобин менее 7.5 %;
- площадь раны менее 4 $см^2$;
- сопутствующие хронические заболевания в стадии декомпенсации (хроническая обструктивная болезнь легких, цирроз печени и т.д.);

- стеноз артерий 65% и более, наличие окклюзий артерий нижних конечностей;
- наличие воспалительных заболеваний вирусного происхождения (ВИЧ, гепатит, грипп и т.д.);
- сепсис (полиорганная недостаточность);

Данные о возрастном составе больных в группах представлены в таблицах 2.1 и 2.2.

Таблица 2.1

Распределение больных по полу и возрасту

в группе 1 (n=257)

Пол	Возраст (полных лет)				
	31-40	41-50	51-60	61-70	Всего
Муж.	11	21	37	33	102
Жен.	27	35	51	42	155
Всего	38 (15%)	56 (22%)	88 (34%)	75 (29%)	257 (100%)

Анализ данных, представленных в таблице 2.1, позволяет сделать вывод о преобладании женщин в группе 1, где они составили 155 (60%) пациентов. Возрастной диапазон участников варьировал от 38 до 70 лет. Наибольшую долю, а именно 34% (88 человек), составили пациенты в возрастной группе 51-60 лет.

Таблица 2.2

Распределение больных по полу и возрасту

в группе 2 (n=250)

Пол	Возраст (полных лет)				
	31-40	41-50	51-60	61-70	Всего
Муж.	12	17	33	35	97
Жен.	26	41	46	40	153
Всего	38 (15,2%)	58 (23,2%)	79 (31,6%)	75 (30%)	250 (100%)

В группе 2 также преобладали женщины - 153 (61,2%) пациента. Возраст участников варьировал от 38 до 70 лет. Большинство пациентов в группе 1 и группе 2 находились в возрастной категории 51–60 лет - 31,6% (79 человек).

Таким образом, средний возраст пациентов с ранами и трофическими язвами II–III степеней в обеих группах составил 53,4±8,3 и 61,2±7,4 лет соответственно.

В таблице 2.3 представлено распределение пациентов по типу сахарного диабета.

Таблица 2.3

Распределение больных по типу сахарного диабета

Группы больных		Тип сахарного диабета	
		I тип	II тип
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	Мужчины	37 (14,3%)	65 (25,2%)
	Женщины	63 (24,5%)	92 (35,7%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	Мужчины	27 (10,8%)	70 (28%)
	Женщины	71 (28,4%)	82 (32,8%)
Всего:		198 (39%)	309 (61%)

Анализ данных, представленных в таблице 2.3, показывает, что подавляющее большинство пациентов (309 человек, что составляет 61,0%) страдали сахарным диабетом второго типа, в то время как остальные 198 пациент (39,0%) имели первый тип заболевания.

В рамках комплексного подхода к лечению СДС, включающего коррекцию гликемии, в период стационарного лечения проводилось исследование гликемического профиля пациентов. Пациенты при поступлении имели различные степени компенсации СД.

Компенсация: уровень глюкозы натощак составлял от 4,6 до 6,1 ммоль/л, после еды через 2 часа – от 4,4 до 8,0 ммоль/л.

Субкомпенсация: уровень глюкозы натощак был ниже 7,8 ммоль/л, после еды через 2 часа – от 4,4 до 9,5 ммоль/л.

Декомпенсация: уровень глюкозы натощак превышал 7,8 ммоль/л, после еды через 2 часа – более 10,0 ммоль/л (табл.2.4).

Таблица 2.4

Показатели степени компенсации сахарного диабета обследуемых больных

Группа	Количество	Стадия		
		Компенсация	Субкомпенсация	Декомпенсация
группа 1 (ПРМ+)	257 (100%)	0 (0%)	52 (20,3%)	205 (79,7%)
группа 2 (ПРМ-)	250 (100%)	0 (0%)	81 (32,4%)	169 (67,6%)
Общее количество	507 (100%)	0 (0%)	133 (26,2%)	374 (73,8%)

В рамках исследования было проанализировано состояние 507 пациентов, поступивших в отделение с диагнозом СД. Подавляющее большинство (374 пациента, или 73,8%) находились в стадии декомпенсации заболевания.

В первой группе (ПРМ+) декомпенсация СД была диагностирована у 205 пациентов, что составило 79,7% от их общего числа.

Во второй группе (ПРМ-) также преобладали пациенты с декомпенсированной стадией диабета, количество которых составило 169 человек, или 67,6% от общего числа больных.

Таким образом, инфекционные осложнения СДС, обусловленные ПРМ, характеризовались более частой декомпенсацией СД.

Для коррекции гипергликемии в ходе лечения применялись различные методы, как показано в таблице 2.5.

Таблица 2.5

Способы коррекции гипергликемии

Группа	Способ коррекции гипергликемии	Количество больных
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	Введение инсулина	200 (77,8%)
	Сахароснижающие таблетированные препараты	52 (20,2%)
	Невозможность добиться компенсации заболевания	5 (2%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	Введение инсулина	166 (66,4%)
	Сахароснижающие таблетированные препараты	81 (32,4%)
	Невозможность добиться компенсации заболевания	3 (1,2%)

В группе 1, чтобы достичь компенсации СД, требовалось более частое использование инсулинов по сравнению с группой 2. Это различие может быть связано с более выраженными метаболическими нарушениями на фоне полирезистентной микрофлоры.

В первые 3-4 дня коррекции уровня сахара в крови в группе 1 (ПРМ+), 5 пациентам (2%) не удалось достичь желаемого уровня глюкозы. В группе 2 (ПРМ-) только 3 пациента (1,2%) столкнулись с такой проблемой. Это может означать, что применение инсулинов на фоне ПРМ+ может быть менее эффективным и требует большего времени для подбора дозы для контроля уровня глюкозы.

Проведен анализ продолжительности заболевания СД у пациентов исследуемых групп (табл. 2.6).

Таблица 2.6

Распределение больных по длительности заболевания

Группа	Стаж диабета			
	≤ 1 год	2-10 лет	11-20 лет	≥ 21 лет
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	19 (7,3%)	152 (59,1%)	74 (28,7%)	12 (4,9%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	13 (5,2%)	176 (70,3%)	52 (21%)	9 (3,5%)

В анализируемой выборке пациентов, продолжительность СД наиболее часто была более 2-х лет. В обеих группах наибольшее количество пациентов имели продолжительность заболевания от двух до десяти лет. Средняя длительность сахарного диабета у пациентов группы 1 составила 9,3±0,8 года, тогда как у пациентов группы 2 этот – 8,2±1,1 года. Период заболевания более 10 лет преобладал у пациентов группы 1 – 86 (33,6%), в группе 2 – 61 (24,5%) ($p<0,05$). Это свидетельствует об увеличении риска ПРМ+инфекции с возрастанием продолжительности заболевания СД.

В исследуемых группах пациентов проанализированы анамнестические данные пациентов, чтобы сформировать основу для выработки алгоритма

лечения и профилактики гнойных осложнений СДС (табл. 2.7).

Таблица 2.7

Характеристика анамнестических данных у больных с СДС

Показатели		Количество больных по группам		Р-значение
		группа 1 (ПРМ+) (n=257)	группа 2 (ПРМ-) (n=250)	
Наследственность		81 (31,5%)	71 (28,4%)	0,446
Избыточный вес (ИМТ >30)		179 (70%)	154 (61,5%)	0,05
Гиперхолестеринемия		192 (74,6%)	134 (53,6%)	0,001
Курение		198 (77,7%)	195 (77,9%)	0,79
Применение антибиотиков до госпитализации		248 (96,5%)	227(88,3%)	0,01
Ампутации пальцев/ экзартикуляции/резекции плюсневых костей в анамнезе	**Без ампутаций**	64 (25%)	105 (42%)	0,001
	≤ 3 лет	14 (5,4%)	16 (6,3%)	0,724
	3-5 лет	89 (34,6%)	83 (33,2%)	0,741
	≥ 5 лет	81 (31,5%)	55 (22%)	0,016
Наблюдение у врача хирурга (подиатра)	**Не наблюдались**	59 (23%)	18 (7,2%)	0,001
	≤ 3 лет	164 (63,8%)	150 (59,9%)	0,378
	≥ 3 лет	75 (29,3%)	41 (16,5%)	0,001

В представленном исследовании проведен сравнительный анализ двух групп пациентов с сахарным диабетом (СД), осложненным хроническими раневыми дефектами. Группа 1 включала пациентов с диабетическими ранами, колонизированными резистентной микрофлорой, тогда как группа 2 состояла из пациентов без признаков антимикробной резистентности. Результаты исследования выявили ряд значимых различий между группами.

Наследственность оценивали путем опроса пациентов, имеющих близких родственников с диагнозом «Сахарный диабет». Различий в наследтсвенной предрасположенности к СД 2 типа между пациентами обеих групп выявлено не было.

В обеих группах преобладали пациенты с избыточной массой тела. В группе 1 данный показатель был статистически значимо выше: 70% (n=179)

против 61,5% (n=154) в группе 2 (p=0,05). Нарушения липидного обмена также чаще регистрировались среди пациентов Группы 1 гиперхолестеринемия выявлена у 74,6% (n=192) пациентов группы 1 по сравнению с 53,6% (n=134) в группе 2 (p=0,001).

Важным различием между группами явилась частота приема антибиотиков до госпитализации. В группе 1 такой анамнез отмечался у 96,5% (n=248) пациентов, тогда как в группе 2 - у 88,3% (n=227) (p=0,01).

Частота хирургических вмешательств также достоверно различалась между группами. Ампутации в анамнезе (экзартикуляции пальцев и резекции плюсневых костей более 5 лет назад) чаще встречались в группе 1 - 31,5% (n=81) против 22% (n=55) в группе 2 (p=0,016). При этом отсутствие предшествующих ампутаций до госпитализации было характерно лишь для 25% (n=64) пациентов шоурры 1, в то время как в группе 2 этот показатель составил 42% (n=105) (p=0,001).

Существенные различия выявлены в частоте наблюдения у врача-хирурга. В группе 1 23% (n=59) пациентов не находились под регулярным контролем хирурга или подиатра, тогда как в группе 2 таких пациентов было лишь -7,2% (n=18) (p=0,001).

Таким образом, пациенты с СДС и ранами колонизированными резистентной микрофлорой (группа 1), характеризуются более выраженными метаболическими нарушениями, длительным приемом антибиотиков, отягощенным хирургическим анамнезом и низкой приверженностью медицинскому наблюдению по сравнению с пациентами группа 2. Эти факторы могут способствовать формированию устойчивых форм инфекции и ухудшению прогноза заживления ран у данной категории больных.

В таблице 2.8 отражены сроки возникновения трофических язв с момента начала заболевания СД.

Сроки возникновения трофических язв Таблица 2.8

Группа	Трофические язвы	
	менее 5 лет	5 и более лет
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	23 (9%)	234 (90,7%)

		Продолжение таблицы 2.8
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	48 (19,2%)	202 (80,8%)
p	p < 0.001	p < 0.001

Результаты исследования продемонстрировали четкую взаимосвязь между длительностью течения СД и риском развития трофических язв. В подавляющем большинстве случаев язвы формировались спустя 5 и более лет с момента нчала заболевания.

В группе 1 продолжительность СД более 5 лет отмечена у 90,7% (n=234) пациентов, в группе 2 -80,8% (n=202).

Полученные данные позволяют предположить, что прогрессирование СД и формирование осложнений, таких как нейропатия, ангиопатия и прогрессирование сопутствующей патология играют ключевую роль в патогенезе хронических трофических язв.

Таблица 2.9

Период рецидива трофических язв

Группа	Трофические язвы		
	≤ 1 года	1- 3 года	≥ 3 лет
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	132 (51,4%)	77 (30%)	48 (18,6%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	36 (14,2%)	67 (26,8%)	147 (59%)
p	p < 0,001	p = 0,425	p < 0,001

Проведённый анализ выявил существенные различия в характере течения трофических язв между исследуемыми группами (см. таблицу 2.9). Установлено, что язвенные поражения в обеих группах имели выраженную тенденцию к рецидивированию, однако динамика этого процесса значительно различалась.

Так, в группе 1 (пациенты с полирезистентной микрофлорой) повторные эпизоды язвообразования в ранние сроки (в течение 3 лет) наблюдались у 81,5% (n=209) пациентов. В то время как в группе 2 (пациенты без признаков

антимикробной резистентности) данный показатель был достоверно ниже – всего 41% (n=103) случаев ($p < 0,001$).

Полученные данные позволяют рассматривать частые рецидивы трофических язв в качестве одного из ключевых факторов, способствующих формированию полирезистентной микрофлоры.

Частота поздних осложнений СД в исследуемых группах представлена в табл.2.10.

Таблица 2.10

Частота поздних осложнений СД

	В дебюте	<5 лет	>5 лет
	Проявление полинейропатии		
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	20 (7,8%)	106 (41,2%)	132 (51%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	12 (4,8%)	118 (47,4%)	120 (48%)
	Проявление ретинопатии		
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	6 (2,3%)	99 (38,4%)	152 (59,1%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	4 (1,6%)	121 (48,4%)	125 (50%)
	Проявление нефропатии		
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	0	27 (11%)	67 (26,7%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	0	11 (4,4%)	55 (22,1%)
	Проявление макроангиопатии		
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	0	37 (14,3%)	220 (85,7%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	0	18 (7,2%)	232 (92,8%)

Из представленных данных (табл. 2.10) видно, что в дебюте заболевания нейропатические проявления отмечались у 20 (7,8%) пациентов с резистентной микрофлорой и 12 (4,8%) в контрольной группе. По мере прогрессирования заболевания частота нейропатии существенно возрастала: при длительности диабета менее 5 лет осложнение регистрировалось у 106 (41,2%) пациентов основной группы против 118 (47,4%) в контрольной, а при стаже более 5 лет – у 132 (51%) и 120 (48%) соответственно. Подобная динамика наблюдалась и для ретинопатии: начальные проявления (2,3% vs 1,6%), прогрессирование при

стаже менее 5 лет (38,4% vs 48,4%) и более 5 лет (59,1% vs 50%).

Наиболее выраженные межгрупповые различия выявлены в развитии нефропатии. Если в дебюте заболевания случаев не зарегистрировано ни в одной из групп, то при стаже менее 5 лет нефропатия диагностировалась у 27 (11%) пациентов с резистентной микрофлорой против 11 (4,4%) в контрольной группе, а при длительности заболевания более 5 лет – у 67 (26,7%) и 55 (22,1%) соответственно. Макроангиопатия развивалась у подавляющего большинства пациентов обеих групп при длительном течении диабета (85,7% vs 92,8%), однако в группе с полирезистентной микрофлорой ее проявления отмечались почти в два раза чаще на ранних стадиях заболевания (14,3% vs 7,2%).

Полученные результаты свидетельствуют о более агрессивном течении диабетических осложнений у пациентов с полирезистентной микрофлорой, особенно в отношении нефропатии и ранних проявлений макроангиопатии.

Перечень сопутствующих заболеваний у пациентов, исследуемых групп, представленв табл. 2.11.

Таблица 2.11

Характер сопутствующих заболеваний в группах больных

Сопутствующее заболевание		Группа исследуемых		P-значение
		группа 1 (ПРМ+) (n=257)	группа 2 (ПРМ-) (n=250)	
Гипертоническая болезнь	II стадия	88 (40,5%)	102 (47,6%)	
	III стадия	129 (59,5%)	112 (52,4%)	
	Итого:	217 (84,4%)	214 (93,6%)	p = 0,7
Ишемическая болезнь сердца	II ФК	137 (53,2%)	146 (58,4%)	
	III ФК	115 (44,9%)	97 (39%)	
	Итого:	252 (98%)	243 (97,2%)	p = 0,532
Заболевания органов дыхания		124 (48,2%)	106 (42,4%)	p = 0,189
Дисциркуляторная энцефалопатия		96 (37,3%)	110 (44%)	p = 0,148

В рамках выполненной работы проведен детальный анализ структуры сопутствующих заболеваний у пациентов, включенных в исследуемые группы.

Следует отметить, что сопутствующая патология была диагностирована у

всех пациентов в группе 1 и в группе 2 без статистических различий.

Доминирующим сопутствующим заболеванием в обеих группах явилась ишемическая болезнь сердца. В группе 1 данная патология была диагностирована у 252 (98%) пациентов, в группе 2 выявлена у 243 (97,2%) пациентов.

Дополнительно были проанализированы данные по другим сопутствующим заболеваниям, включая гипертоническую болезнь сердца и хронические заболевания дыхательной системы. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии различий в структуре сопутствующей патологии между группами.

В ходе исследования был проведен анализ распределения пациентов с различными степенями трофических язв по глубине (w-wound) в соответствии с классификацией WIFI (таб. 2.12) и выраженности инфекционного процесса (i-infection) (табл. 2.13) согласно классификации WIFI.

Таблица 2.12

Распределение больных по степеням (w-wound) трофических язв WIFI

	W-II степень	W-III степень
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	101 (39,3%)	156 (60,7%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	151 (60,4%)	99 (39,6%)
p	$p < 0.01$	$p < 0.01$

Общее количество пациентов с язвенными поражениями II степени во всех исследуемых группах составило 252 человека, что соответствует 49,7% от общего числа обследованных. При этом язвы III степени были диагностированы у 255 пациентов, или 50,3%.

В группе 1 язвенные дефекты II степени выявлены у 101 пациентов, что составило 39,3% от общего числа в данной группе. В группе 2 аналогичные поражения зафиксированы у 151 пациента - 60,4% ($p < 0.01$).

Что касается язв III степени, то в группе 1 (ПРМ+) они были диагностированы у 156 пациентов (60,7%), тогда как в группе 2 (ПРМ-) такие поражения наблюдались у 99 пациентов, что соответствует 39,6%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов группе 1 язвенные дефекты характеризовались большей глубиной и площадью

поражения по сравнению с пациентами группы 2. Это подчеркивает различия в тяжести течения патологического процесса между группами, более высокий риск развития ПРМ в условиях более обширного раневого дефекта.

Таблица 2.13

Распределение больных по степеням (i-infection) трофических язв WIFI

	II степень	III степень
группа 1 (ПРМ+) (n=257)	98 (38,1%)	159 (61,9%)
группа 2 (ПРМ-) (n=250)	133 (53,2%)	117 (46,8%)
p	$p < 0.01$	$p < 0.01$

Проведенный анализ степени инфекционного процесса по классификации WIFI. Среди 507 обследованных пациентов инфекционный процесс II степени был диагностирован в 45,6% случаев (n=231), тогда как III степень - в 54,4% (n=276), что свидетельствует о преобладании более тяжелых форм инфекционного поражения.

Межгрупповой анализ продемонстрировал статистически значимые различия ($p < 0,01$) в распределении степеней инфекционного процесса:

В группе с полирезистентной микрофлорой (группа 1, n=257) преобладали случаи III степени (61,9%, n=159), тогда как II степень была выявлена лишь у 38,1% пациентов (n=98);

В группе без признаков антимикробной резистентности (группа 2, n=250), чаще регистрировалась II степень инфекционного процесса (53,2%, n=133), а III степень отмечалась в 46,8% случаев (n=117).

Полученные данные указывают на более тяжелое течение инфекционного процесса у пациентов с полирезистентной микрофлорой. Это может быть обусловлено комплексом факторов:

1. Более обширными и глубокими язвенными дефектами;
2. Длительным анамнезом сахарного диабета с выраженными осложнениями;
3. Ограниченными возможностями антимикробной терапии при полирезистентной инфекции;
4. Нарушением процессов репарации на фоне хронической инфекции.

Полученные результаты послужили основанием для разработки нового алгоритма лечения инфекционных осложнений диабетической стопы, обусловленных полирезистентными микроорганизмами.

Клинический пример.

Для наглядной иллюстрации клинической картины на рисунках 2.1а и 2.1б представлены изображения трофических язв II (а) и III (б) степени у пациентов с СДС. Эти визуальные материалы позволяют более четко продемонстрировать различия между степенями инфекционного процесса, подчеркивая тяжесть и особенности поражений у пациентов с различной динамикой заболевания.



Рис. 2.1[а]. Больная К., 68 лет. Трофическая язва II степени тыльной поверхности левой стопы (WIFI)



Рис. 2.1[б]. Больная Б., 64 лет. Рана III степени подошвенной поверхности IV пальца левой стопы (WIFI)

Таким образом, исследуемые группы пациентов были сопоставимыми по следующим параметрам: возраст, пол, продолжительность заболевания,

характер сопутствующей патологии и другим характеристикам.

Чтобы оценить эффективность применяемых методик, каждая группа пациентов была разделена на подгруппы, которые были созданы с учетом поставленных задач. Эти подгруппы подробно описаны в соответствующих главах исследования.

2.2. Характеристика методов исследования

Всем больным, находившимся на лечении, и у большей части из них в отдаленные сроки было проведены лабораторное и клинико-инструментальное обследования согласно клинических рекомендаций. В общеклинические методы входили: общий анализ крови и мочи, ЭКГ, рентгенография грудной клетки, коагулограмма, биохимические исследования сыворотки крови, в том числе гликемический профиль, показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови. Определение общего клинического анализа крови осуществлялось на гематологическом анализаторе pocH-100i фирмы Sysmex (Япония). Биохимические исследования проводились у больных при поступлении их в стационар, после окончания курса лечения и у ряда из них при контрольном обследовании в отдаленном периоде. Исследование проводилось с использованием стандартного набора реактивов на биохимическом анализаторе Ellipse фирмы AMS (Италия).

Вместе с изучением катамнеза, проведением общеклинических и биохимических исследований в работе использовали специальные методы исследований, которые представлены в табл. 2.14.

Таблица 2.14

Общий объем выполненных исследований

	Характер исследования	Кол-во	Охват, %
1	Микробиологическое выявление полирезистентных возбудителей	507	100
2	Индивидуальный подбор бактериофагов к полирезистентному возбудителю	189	37,3
3	Оценка выживаемости патогенных микроорганизмов ESKAPE после воздействия факторов низкотемпературной аргоновой плазмы	45	9

	Характер исследования	Кол-во	Охват, %
4	Оценка клинической эффективности эндовенозной лазерной коагуляции на штаммы патогенных микроорганизмов ESKAPE и заживление трофических язв	369	72,3
5	Исследование площади трофических язв	507	100
6	УЗДГ сосудов нижних конечностей	433	85,4
7	Определение ТБК-активных продуктов	367	72,4

2.3. Лабораторные методы обследования больных

2.3.1. Методика микробиологического выявления полирезистентных возбудителей

Исследование проводилось в период с 2006 по 2022 год в микробиологических лабораториях лечебных учреждений стационарного типа. В анализ включены штаммы, выделенные от 507 пациентов с ТЯ СДС (WI-FI). Всего изучено 626 штаммов. Посев первичного материала производили общепринятыми в бактериологической практике методами - посев материала на питательные среды с последующим выделением чистой культуры и изучением свойств, характеризующих ее патогенность. Для этой цели были использованы: 5 % кровяной агар, среда Эндо (НПО «Микроген»), желточно-солевой агар (ЖСА) Чистовича, хромогенный агар Уриселект («БИО-РАД», Франция). Материал засевали на чашки Петри и культивировали при 37,0ºС на ЖСА в течение 2 суток, на остальных средах – сутки. Идентификацию выделенных штаммов проводили при помощи время пролетной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) на приборе BactoSCREEN (ООО НПФ «Литех», Россия) с применением набора реагентов для подготовки образцов биопроб с целью последующего анализа методом масс-спектрометрии (ООО НПФ «Литех», Россия) согласно инструкции производителя, и Vitec2 compact (bioMerieux, Франция). Определение чувствительности возбудителей к антимикробным препаратам изучали в соответствии с Европейскими рекомендациями [114] диско-

диффузионным методом и на приборе Vitek2 compact. На основании полученных значений зон подавления роста и минимально подавляющих концентраций результаты относили к категориям чувствительности – чувствительный (Ч), резистентный (Р). На основании определения чувствительности/резистентности выделенных бактериальных штаммов к антибиотикам выявляли поли- и панрезистентные штаммы.

Чувствительность стафилококков к β-лактамным антибиотикам оценивали после выявления метициллинорезистентности (MRS); чувствительность энтеробактерий к цефалоспоринам и пенициллинам – после обнаружения наличия или отсутствия β-лактамаз расширенного спектра (ESBL).

2.3.2 Методика проведения индивидуального подбора бактериофагов к полирезистентному возбудителю

Подбор активного бактериофага к штаммам производился на базе КДЦ МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Опредеделение чувствительности, предварительно идентифицированной бактериальной культуры, к бактериофагу проводили методом спот-теста. В случае частичного лизиса бактериального газона в зоне пятна применялся модифицированный метод Грациа для определения эффективности фаговой инфекции. Культуру считали чувствительной, а фаг (с обязательным указанием номера серии препарата) рекомендовали для лечения при обнаружении на секторе чашки негативных колоний. Продукты коктейля бактериофагов для применения использовались как из коллекции КДЦ МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, так и из конкретных серий препаратов НПО «Микроген», в том числе на базе ФГБУ «НМИЦ ВМТ им. А.А. Вишневского» Минобороны России.

Технология применения фагов предполагала: 1. микробиологический посев с выявлением штамма возбудителя полирезистентной флоры к 4 суткам после поступления пациента в стационар; 2. после получения результатов бактериального посева с учетом чувствительности штаммов ежедневно в течение 5 суток, после тщательного промывания стерильным 0,9% раствором

натрия хлорида, рану дополнительно местно обрабатывали 2,0 мл раствора подобранного бактериофага в титре 10^8 БОЕ/мл. Нанесение его осуществлялось на стерильную марлевую повязку в виде аппликаций со сменой повязки 1 раз в сутки; 3. на 6-е сутки после применения бактериофагов выполняли контроль бактериального посева со дна язвы.

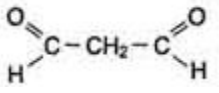
2.3.3 Методика определения активных продуктов ПОЛ

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) – окислительная деградация липидов, происходящая в основном под действиемсвободных радикалов. В числе продуктов этого процесса – малоновый диальдегид (МДА) и 4-гидроксиноненал.

Реакции биологического окисления сопровождаются образованием свободных радикалов, частиц, имеющих на внешней орбите неспаренный электрон. Это обусловливает высокую химическую активность этих радикалов. Например, они вступают в реакцию с ненасыщенными жирными кислотами мембран, нарушая их структуру. Антиоксиданты предотвращают свободнорадикальное окисление [200].

Через стадию перекисных производных ненасыщенных жирных кислот осуществляется биосинтез простагландинов и лейкотриенов, а тромбоксаны, оказывающие мощное влияние на адгезивно-агрегационные свойства форменных элементов крови и микроциркуляцию, сами являются гидроперекисями. Образование гидроперекисей холестерина — одно из звеньев в синтезе некоторых стероидных гормонов, в частности прогестерона.

Малоновый диальдегид

Малондиальдегид, малоновый диальдегид (МДА, MDA) — альдегид с формулой $CH_2(CHO)_2$ . Возникает в организме при деградации полиненасыщенных жиров активными формами кислорода, служит маркером перекисного окисления жиров (в том числе и при действии излучения) и оксидативного стресса.

MDA, наряду с другими «тиобарбитурореактивными веществами»

(англ. thiobarbituric reactive substances, TBARS), вступает в реакцию с тиобарбитуровой кислотой, образуя красный флуоресцентный состав, что позволяет проводить приблизительный спектроморфометрический анализ содержания MDA. Более селективный реагент – 1-метил-2-фенилиндол.

Метод определения малонового диальдегида [Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977.С. 66–68.]

Исследуемый материал: сыворотка крови

Ход эксперимента:

0.2 мл сыворотки крови

↓

0.1 мл $FeSO_4$ x $7H_2O$

↓

Пробы встряхивают в течение 2 мин

↓

0.1 мл ионола

↓

1.5 мл глицинового буфера

↓

1.5 мл ТБК

↓

Содержимое проб перемешать стеклянной палочкой

↓

Кипятить на водяной бане 15мин

↓

Пробы выдержать на ледяной бане 10мин

↓

1.0 мл ледяной уксусной кислоты

↓

2.0 мл хлороформа

↓

Центрифугирование 10мин при 8000 об/мин

↓

определяют значения оптической плотности супернатанта при λ=532 нм и λ=580 нм.

Расчет ведут по формуле:

$$C = \frac{D532 - D580}{1.56 * 105\ M\text{-}1\ см\text{-}1} = \frac{\Delta E}{156000_1}\ моль/л$$

Пример расчета содержания МДА:

$$C = \frac{\Delta E}{0.156} = \frac{0.027}{0.156} \times 16 = 0.173 \text{ мкмоль/л} \times 16 = 2.77 \text{ мкмоль/л}$$

Каталаза

Каталаза (от греч. καταλύω – разрушаю) – фермент, который разлагает образующуюся в процессе перекисного окисления перекись водорода на воду и молекулярный кислород ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$), а также окисляет в присутствии перекиси водорода низкомолекулярные спирты и нитриты. Содержится почти во всех организмах. Участвует в тканевом дыхании.

Функция каталазы сводится к разрушению токсической перекиси водорода, образующейся в ходе различных окислительных процессов в организме.

Метод определения активности каталазы [32]

Исследуемый материал: сыворотка крови
Ход эксперимента:

I холостая	II контрольная	III опытная
2.0 мл H_2O_2	2.0 мл $H_2O_{дис.}$	2.0 мл H_2O_2
0.1 мл $H_2O_{дис.}$	0.1 мл сыворотки крови	0.1 мл сыворотки крови

↓

ИНКУБАЦИЯ 10' при 37ºС

↓

Во все пробы добавляют по
1.0 мл молибдата аммония

↓

Пробы центрифугируют при 3000 об/мин 10 мин**

Интенсивность развившейся окраски измеряют
на спектрофотометре при λ=410 нм против контрольной пробы
(содержащей вместо H_2O_2 – 2 мл $H_2O_{дис}$).

Обнуление холостой пробы против воды

Обнуление опытной пробы против контроля

Функцией фермента является предотвращение накопления перекиси водорода, образующейся при дисмутации супероксидного аниона и при аэробном окислении восстановленных флавопротеидов.

Применяемый метод основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Активность каталазы сыворотки рассчитывают по формуле:

E = (Ахол.- Аоп) * V * t * K (мкат/л) или μкат/мл,

где E – активность каталазы (в милликат/л);

Ахол и Аоп – экстинция холостой и опытной проб;

V – объем пробы (л), т.е. 0.0031 мл;

t – время инкубации 600 с.;

K – коэффициент миллимолярной (mM) экстинции перекиси водорода, равный 22.2 $мМ^{-1}$*см-1 (или 22.2 х 103 М-1 см-1).

МЕ (мкмоль/мин/мг) = 0.017 μкат

Приготовление реактивов

для определения активности каталазы

1. 0.03 % раствор перекиси водорода (H_2O_2): 1.0 мл (3 % H_2O_2) растворяют в 99.0 мл воды очищенной.
2. 4% раствор аммония молибденово-кислого (молибдат аммония) ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ х $4H_2O$): 2.08 г. $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$х $4H_2O$ растворяют в 50 мл воды очищенной.

2.4. Клинико-инструментальные методы обследования больных

2.4.1. Оценка выживаемости патогенных микроорганизмов ESKAPE после воздействия факторов низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП)

Объект исследования: штаммы из группы ESKAPE патогенов, выделенных от пациентов Klebsiela pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Escherichia coli, грамположительные бактерии MRSA Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, E. Faecium, обладающих множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам по системе EUKAST,

дрожжеподобных грибов Candida albicans, выделенных от пациентов с раневой поверхности, и эталонные музейные культуры E. coli ATCC 10536, K. pneumoniae subsp. pneumoniae ATCC 700603, S. aureus 906, P. aeruginosa ATCC 10145, E. faecalis ATCC 29212, E. faecium 9/63, грибы C. albicans 24433 ATCC из рабочей коллекции ФГБУ «ЦСП» ФМБА России.

Субъект исследования: оценка эффективности влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на задержку роста микроорганизмов по зоне лизиса бактериального роста – зоне снижения числа КОЕ.

Приготовление взвеси микроорганизмов: бактерии выращивали на плотных питательных средах - среде Эндо, агаре для Бруцелл с добавлением 5% дефибринированной бараньей крови, желточно-солевом агаре, энтерококк агаре, грибы выращивали на среде Сабуро.

Методика проведения исследования заключалась в следующем. Суточные культуры штаммов микроорганизмов вносили на поверхность агаризованной среды в каждую чашку Петри (d=90 мм) сплошным газоном капельным методом из расчета 100 мкл на чашку так, чтобы на каждой чашке Петри выросло от 10^8 до 10^9 КОЕ, и расстилали шпателем по поверхности. В наносимой на поверхность агаризованной среды суспензии содержание каждого микроорганизма было 4,5 McFarland Standard No, что составляет порядка 9,0x10^8 – 1,2 x10^9 КОЕ/мл. Затем каждая чашка с внесенным микроорганизмом обрабатывали в индивидуальном порядке на плазменно-дуговой установке «ПЛАЗМОРАН» в заданном режиме с учетом расстояния до объекта (L) 10, 15 и 20 см и времени воздействия 15, 30, 45 сек для бактерий и 30, 45 и 60 сек для грибов. Чашки с посевами инкубировали в течение 24-48 ч при температуре (37$\pm$1)^{0}C. После инкубации проверяли чистоту каждой культуры и идентифицировали методом масс-спектрометрии с применением Microflex тип LT/SH с программным обеспечением. Затем биомассу выросших колоний бактерий, находящихся в экспоненциальной фазе роста, снимали с поверхности 2-х чашек плотной среды.

Оценка влияния НТАП на выживаемость микроорганизмов из группы

ESKAPE патогенов проводилась через сутки (24 часа) для бактерий и через 2 суток (48±2 часа) для грибов в сравнении с контролем (бездействия НТАП).

В исследовании использовали плазменно-дуговую установку «ПЛАЗМОРАН» для формирования следующих факторов:

- газодинамический поток рабочего газа;
- интенсивное рекомбинационное излучение с широким спектром – от области вакуумного ультрафиолета до ближнего инфракрасного диапазона, при этом относительно малые значения Фактора L позволяют избежать полного поглощения коротковолновой составляющей атмосферными газами;
- рабочий газ – аргон, обладающий выраженными каталитическими свойствами в реакциях с участием кислорода и его соединений;
- озон, образующийся в результате воздействия рекомбинационного излучения на кислород воздуха, инжектируемый в область прохождения излучения за счет турбулентности газодинамического потока аргона в воздухе.

В проведенном исследовании не проводилась оценка вклада каждого из вышеуказанных факторов действия НТАП на процесс гибели микроорганизмов. На данном этапе были получены только результаты измерения интенсивности ультрафиолетового излучения исследуемой установки (рис 2.2).

В связи с вышеперечисленным, по полученным результатам проведенных исследований проводили оценку совокупности факторов действия НТАП в процессе воздействия на жизнедеятельность тест-микроорганизмов.

При проведении исследования использовали 2 режима плазмообразования, 3 варианта расстояния от среза сопла плазмотрона до плоскости расположения культуры в чашке Петри (Фактор L - расстояние), 6 вариантов экспозиции действия факторов НТАП на культуры (Фактор Т-время).

Проводимое исследование разделено на несколько этапов:

- Предварительное исследование, в ходе которого проведена

оценкадинамического диапазона действия факторов НТАП на выживаемость микробов, а также отработка процедуры и методики проведения исследований.

- Основное исследование по теме настоящей НИР.
- Дополнительноеисследование.

Схема исследования в эксперименте

Плазмотрон закрепляли на штативе. Ориентация оси плазмотрона– вертикально, соплом вниз. При этом расстояние от среза сопла до поверхности культуры микроорганизмов (вдоль оси плазмотрона) соответствовало заданным значениям фактора L (рисунок 2.2).

Затем каждую чашку с опытными посевами помещали в плазменно-дуговую установку ПЛАЗМОРАН и проводили обработку. После обработки чашки помещали в термастат на требуемую для каждого микроорганизма температуру инкубации.

При плазмогенерации на обрабатываемой поверхности образуется пятно освещенности, формируемое рекомбинационным излучением НТАП, которое можно условно разделить на две области:

1) центральная область - в виде круга, имеющего максимальную освещенность в пятне и обладающего относительной однородностью;

2) краевая область - в виде кольца вокруг центральной области, освещенность которого перманентно снижается от максимальной на внутреннем диаметре кольца до нулевой на внешнем диаметре.

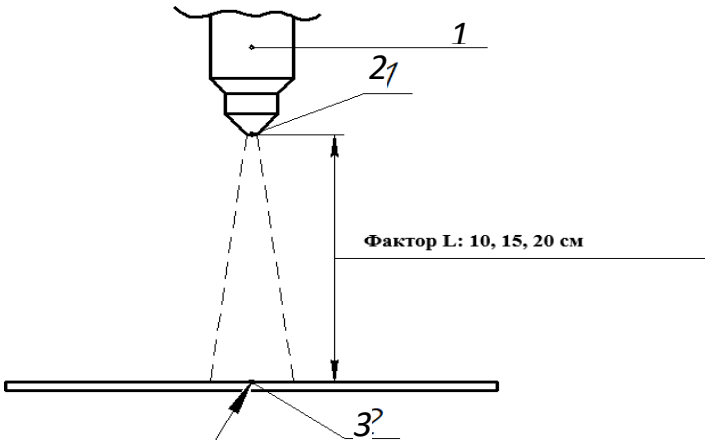
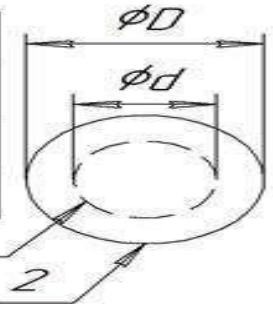


Рис. 2.2 – Схема положения плазмотрона.

1–плазмотрон, 2 –срез сопла плазмотрона, 3–обрабатываемая поверхность.

Размеры центральной и краевой области зависят от фактора L (рисунок 2.3). Чашки основной группы располагали так, чтобы пятно освещенности рекомбинационного излучения НТАП краевой области охватывало зону посева. Для каждого значения фактора L культуры микроорганизмов обрабатывались

Фактор L см	d мм	D мм
10	15	25
15	25	40
20	30	45



для всех значений фактора Т.

Рисунок 2.3 – Геометрия пятна освещенности на обрабатываемой поверхности, формируемого рекомбинационным излучением НТАП в зависимости от значения фактора L.
1–Граница центральной и краевой областей;
2–Внешняя граница краевой области.

Для каждой культуры микроорганизмов создавалась контрольная группа. Чашки контрольной группы не обрабатывались.

После обработки факторами действия НТАП чашки с культурами (как

основной, так и контрольной группы) помещались в термостат для дальнейшего культивирования.

Таблица 2.15

Энергетические характеристики излучения НТАП

E (Дж/м^2) Диапазон				
Тип УФ	Фактор L=10 см			
	Фактор T = 15 с	Фактор T = 30 с	Фактор T = 45 с	Фактор T = 60 с
УФ-А	36,4 - 37,5	72,3 - 74,1	108,45 - 111,15	144,6 - 148,2
УФ-В	17.9 - 18,6	35,9 - 37,3	53,8 - 55,9	71,8 - 74,5
УФ-С	37,3 - 38,6	74,6 - 77,3	111,9 - 115,7	149,3 - 154,5
E (Дж/м^2) Диапазон				
Тип УФ	Фактор L=15 см			
	Фактор T = 15 с	Фактор T = 30 с	Фактор T = 45 с	Фактор T = 60 с
УФ-А	36,15 - 37,05	72,3 - 74,1	108,45 - 111,15	144,6 - 148,2
УФ-В	15,6 - 16,2	31,2 - 32,4	46,8 - 48,6	62,4 - 64,8
УФ-С	29,85 - 30,9	59,7 - 61,8	89,55 - 92,7	119,4 - 123,6
E (Дж/м^2) Диапазон				
Тип УФ	Фактор L=20 см			
	Фактор T = 15 с	Фактор T = 30 с	Фактор T = 45 с	Фактор T = 60 с
УФ-А	34,4 - 35,9	71,1 - 73,2	105,6 - 109,4	142,4 - 147,5
УФ-В	12,0 - 13,5	24,0 - 25,1	36,2 - 37,9	48,3- 50,0
УФ-С	19,7 - 20,5	39,5 - 40,9	59,3 - 61,4	79,1 - 81,8

Энергетические характеристики представлены в виде следующих значений:

УФ-А: 315-400 нм УФ-В: 280-315 нм УФ-С: 200-280 нм

Получение результатов и их анализ

Подсчет колониеобразующих единиц (КОЕ) осуществлялся как внутри, так и на границах центральной и периферической зон. Фотографирование чашек проводилось с использованием программы «ReadA Compact BD Kiestra» спустя 24 часа после обработки для бактериальных культур и через 48 часов – для грибковых. Полученные данные систематизировались в таблицах, на основе которых в дальнейшем рассчитывалась эффективность воздействия низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП).

Для оценки влияния НТАП на ингибирование роста микроорганизмов определялся процент снижения или полного отсутствия их роста в зоне обработки по сравнению с контрольными образцами. Контрольные чашки содержали культуры микроорганизмов, не подвергавшиеся воздействию плазмы. Дополнительно для контроля титра микроорганизмов применялся

метод серийных разведений с последующим посевом на чашки Петри и учетом количества КОЕ на поверхности агаризованных сред.

Оценку проводили с применением подсчета эффективности (%) отмирания бактерий и грибов на поверхности контрольных и опытных образцов по формуле:

Эффективность = 100 – ((ΣТ х100)/Сср) (%), где

Сср – среднее значение количества бактерий в исходной суспензии, вычисляется по формуле Сср = ∑ С/ n, где ∑С - сумма всех колоний, выросших на чашках во всех вариантах; n - количество вариантов.

Тср - среднее значение количества бактерий, выросших на чашках после 24 -48 часов инкубации посевов, вычисляется по формуле Тср = ∑ Т/ n, где

∑Т - сумма всех колоний, выросших на чашках после 24-48 часов инкубации посевов во всех повторностях; n – количество чашек (не менее 5 для каждого образца в соответствии с ЕН ИСО 11737-1), используемых для исследования (одинаковое для контроля и образца).

Критерием антимикробной активности образцов считали снижение не менее чем на 99,99 % роста или полное отсутствие роста тест-микроорганизмов через 24 – 48 ч.

2.4.2. Методика проведения эндовенозной лазерной коагуляции (ЭВЛК) лазерным аппаратом «ИРЭ-ПОЛЮС»

Всем пациентам основной группы проведена ЭВЛК большой подкожной вены бедра (БПВ) под тумесцентной анестезией, результатом которой явилось устранение патологического вертикального рефлюкса крови в пораженной конечности. Оперативное лечение проводили лазерным аппаратом с длиной волны 1560 нм) под УЗИ наведением. Суммарная энергия зависела от диаметра БПВ и составляла от 80 до 120 Дж.

Оборудование:

1.лазерный аппарат ЛСП «ИРЭ-Полюс» с длиной волны 1,56 мкм и ЛСП «ИРЭ-Полюс» COMPACT с длиной волны 1,55 мкм;

2.Набор для эндовенозных манипуляций:

- пункционная игла;
- проводник;
- интродьюсер с обтуратором;
- маркированный эхо-позитивный световод.

3.Помпа дла паравазальной анестезии

4. Аппарат УЗИ (режим «small parts») Logic «5»

Стандартная процедура эндовенозной лазерной облитерации большой подкожной вены бедра (БПВ) включала следующие этапы:

1.пункция и катетеризация большой подкожной вены бедра;

2.проведение световода до уровня сафено-феморального соустья;

3.паравазальная анестезия (раствор Кляйна: 50,0 мл 2% раствора лидокаина, 0,5 мл 0,01% раствора адреналина, 12,5 мл 8,4% раствора бикарбоната натрия, температура раствора 10-15^{0}С);

4. этап лазерной коагуляции

2.4.3. Методика определения площади трофических язв

Площадь трофических язв определяли с помощью поверхностного измерения кожных повреждений. С использованием миллиметровой бумаги для точного расчета площади язвенной поверхности (рис. 2.4).

Наибольшую долю составили пациенты с площадью трофических язв от 4 до 5 см²: в группе 1 таких было 118 человек (45,9%), а в группе 2 – 106 человек (42,4%). На втором месте оказались язвы площадью от 3 до 4 см²: 95 пациентов (36,8%) в группе 1 и 85 (34%) – в группе 2 (табл. 2.15).

Таблица 2.16

Площадь трофических язв II-III ст WIFI

Группа	Площадь трофических язв			
	≤ 5 см2	5 – 10 см^2	10 – 15 см^2	15 см^2≥
группа 1 (n=257)	15 (5,8%)	95 (36,8%)	118 (45,9%)	29 (11,3%)
группа 2 (n=250)	12 (4,8%)	85 (34%)	106 (42,4%)	43 (17,2%)

На рисунке 2.4 изображено измерение площади трофической язвы миллиметровой бумагой.

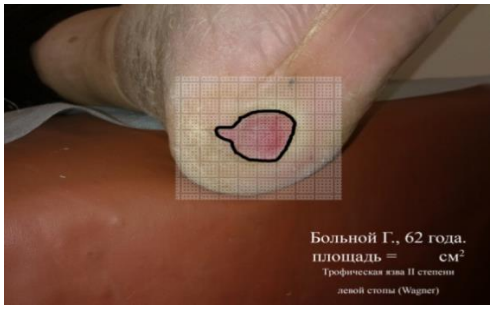


Рис. 2.4 Измерение площади трофической язвы

2.4.4. Методика выполнения дупексного сканирования вен нижних конечностей

При дуплексном сканировании оценивали состояние венозной системы нижних конечностей. Ультразвуковое исследование выполнялось на аппарате «Logic5» (Япония). На аппарате «Logic5» (Япония) проводилась оценка ключевых показателей гемодинамики венозных сосудов. Выполнена оценка следующих характеристик: состоятельность остиального клапана поверхностной фасциальной системы (СФС), наличие вертикального рефлюкса по большой и малой подкожным венам (БПВ и МПВ), а также диаметр вен, средняя и объемная скорость кровотока. Эти данные позволяют получить комплексное представление о состоянии венозной системы и ее функциональных изменениях.

2.5. Методы статистической обработки данных

Полученные в исследовании данные подвергались статистической обработке с использованием программы «Statistica v.10.0». Выбор методов статистического анализа определялся объемом сравниваемых групп.

Для групп пациентов с численностью менее 50 человек ($n < 50$) применялись непараметрические методы статистики. Количественные переменные описывались с помощью медианы (M) и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентили), так как распределение показателей в таких

выборках не всегда соответствовало нормальному. Для сравнения двух независимых групп использовался U-критерий Манна-Уитни, а для оценки динамики показателей внутри одной группы (до и после лечения) — критерий Уилкоксона для связанных выборок.

Для групп пациентов с численностью более 50 человек ($n>50$) применялись параметрические методы. В соответствии с центральной предельной теоремой, при больших объемах выборки распределение выборочных средних приближается к нормальному, что позволяет использовать критерий Стьюдента для сравнения независимых групп независимо от характера распределения исходных признаков. Количественные данные в таких группах представлялись в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (± SD). Для оценки динамики показателей внутри одной группы применялся парный критерий Стьюдента.

Сравнение долей бинарных признаков в группах (независимо от их объема) выполнялось с помощью критерия χ^2 (хи-квадрат) Пирсона с поправкой Йейтса на непрерывность при малых ожидаемых частотах.

Для количественной оценки влияния факторов риска на вероятность развития полирезистентной инфекции у пациентов с синдромом диабетической стопы применялся метод логистической регрессии с расчетом отношения шансов (Odds Ratio, OR) и его 95% доверительного интервала. Статистически значимыми считались различия при достигнутом уровне значимости $p <0,05$, что соответствует доверительной вероятности не менее 95%.

ГЛАВА 3. ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

3.1. Особенности микробного пейзажа у больных с инфекционными осложнениями СДС

В клинической практике полирезистентные микроорганизмы определяются как патогены с одновременной устойчивостью к трем или более классам противомикробных средств. Наиболее распространенными бактериями с множественной лекарственной устойчивостью являются метициллинрезистентный золотистый стафилококк (MRSA), метициллинрезистентный эпидермальный стафилококк (MRSE), бактерии, продуцирующие β-лактамазу расширенного спектра действия (ESBLs), бактерии с множественной лекарственной устойчивостью, синегнойная палочка (MDR-PA) и устойчивые к карбапенемам энтеробактерии (CRE).

В условиях глобального роста числа полирезистентных инфекций, проблема устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам становится все более актуальной.

Возрастание уровня резистентности патогенов приводит к увеличению числа случаев неудачного лечения, пролонгированию сроков госпитализации и повышению риска осложнений, включая ампутацию и летальные исходы.

В рамках нашего исследования приоритетное внимание уделялось оценке видового состава микрофлоры и количественному определению микробных тел в 1 гр ткани гнойно-некротического очага, молекулярно-генетические исследования. Полученные данные позволили выявить доминирующие виды микроорганизмов, оценить их концентрацию и определить чувствительность к антибактериальным препаратам. Эти результаты являются основой для разработки эффективных стратегий лечения и профилактики инфекционных осложнений СДС.

При проведении микробиологических исследований мы использовали биоптаты тканей раны, которые являются более информативным материалом, по сравнению с мазками и соскобами.

Соотношения грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, изолированных от больных с синдромом диабетической стопы, представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1

Микробиологическая характеристика ран/язв у больных с СДС при включении в исследование

Микроорганизмы	группа 1 n=257	группа 2 n=250	p-значение
Грамположительные микроорганизмы, n (%)	122 (47,5%)	220 (88%)	0,003
Грамотрицательные микроорганизмы, n (%)	135 (52,5%)	30 (12%)	0,00001
Количество видов микроорганизмов, n	29	22	-

У больных группы 1 инфекционный процесс изначально носил выраженный распространенный характер с обильным ростом микроорганизмов, в 61% случаев обусловленный их ассоциациями.

Микробный пейзаж ран характеризовался присутствием грамположительных (Гр (+)) и грамотрицательных (Гр (-)) микроорганизмов. Гр (-) микроорганизмы преобладали у пациентов группы 1 (135 (52,5%), реже выделены Гр (+) - в 122 случаях (47,5%).

У 250 больных группы 2 микробный пейзаж ран также характеризовался присутствием Гр (+) и Гр (-) микроорганизмов. Однако, Гр (+) микроорганизмы существенно преобладали по сравнению с Гр (-): 220 (88%) и 30 (12%) соответственно).

Различия в частоте выделения Гр (+) и Гр (-) микроорганизмов и ассоциаций между первой и второй группами обусловлены факторами более тяжелого и более продолжительного инфекционного процесса у пациентов группы 1 (Таблица 3.2).

Таблица 3.2

Видовой состав грамположительных микроорганизмов, изолированных у пациентов при поступлении

Микроорганизмы	группа 1 n=257	группа 2 n=250	p-значение
Staphylococcus aureus, n (%)	66 (25,7%)	32 (13%)	0,003
Enterococcus faecalis, n (%)	12(4,7%)	63 (25%)	0,001
Staphylococcus epidermidis, n (%)	16 (6,2%)	90 (36,1%)	0,0002
Streptococcus spp., n (%)	28 (10,9%)	35 (14%)	0,04
Всего	122 (47,5%)	220 (88%)	0,003

У пациентов группы 1 среди Гр (+) микроорганизмов преобладал Staphylococcus aureus - 66 (25,7%). Затем по частоте встречаемости следовали Streptococcus spp.– 28 (10,9%), коагулазонегативные стафилококки (CNS) – 16 (6,2%), Enterococcus faecalis - 12 (4,7%).

Детализация спектра частоты высеваемости Гр (+) микроорганизмов у пациентов группы 2: Staphylococcus epidermidis – 90 (36,1%), Enterococcus faecalis – 63 (25%), Streptococcus spp.-35 (14%), Staphylococcus aureus – 32 (13%).

Различия в спектре частоты выделения Гр (+) микроорганизмов между пациентами первой и второй группы обусловлено факторами характера и продолжительности инфекционного процесса. Так, у пациентов группы 2 инфекционный процесс носил острый характер и был мене продолжительным по времени. Еще одним фактором, влияющим на микробный пейзаж, являются условия, определяющие его возникновение. В данном случае инфекционный процесс возникал в домашних условиях. В связи с этим наиболее частыми из Гр (+) микроорганизмов были Staphylococcus epidermidis и Streptococcus. У пациентов группы 1 преобладали Staphylococcus aureus с реализованным потенциалом формирования полирезистентных форм (MRSA), тем самым приводя к тяжелому и продолжительному инфекционному процессу. Это обстоятельство обусловило выраженные трудности в лечении этих пациентов.

Таблица 3.3

Частота выделения грамотрицательных микроорганизмов порядка Enterobacteriales и грамотрицательных неферментирующих бактерий

Микроорганизмы	группа 1 (ПРМ+) основная n=257	группа 2 (ПРМ-) сравнения n=250	p-значение
	исходно	исходно	
Enterobacteriales, n (%)	70 (27,2%)	20 (8%)	0,0001
Неферментирующие грам(-) микроорганизмы	65 (25,3%)	20 (8%)	0,0002
Всего	135 (52,5%)	40 (16%)	0,00001

Микробиологический анализ частоты выделения грамотрицательных микроорганизмов порядка Enterobacteriales и грамотрицательных неферментирующих бактерий выявил существенные различия в структуре возбудителей между группами с полирезистентными (ПРМ+) и чувствительными (ПРМ-) микроорганизмами. В группе группе 1 грамотрицательная микрофлора обнаруживалась в 135 (52,5%) случаев, что более чем в 3 раза превышало показатель группы 2 – 40 (16%). При этом в структуре выделенных микроорганизмов преобладали представители порядка Enterobacteriales 70 (27,2%) и неферментирующие грамотрицательные бактерии 65 (25,3%).

В группе 2 частота выявления грамотрицательных микроорганизмов была достоверно ниже ($p<0,0001$) и составляла всего 20 (8%) для каждой из исследуемых групп бактерий. Такое распределение микрофлоры характерно для внегоспитальных инфекций и отражает более благоприятный прогноз течения заболевания.

Особое внимание следует уделить высокой частоте сочетанного выделения энтеробактерий и неферментирующих микроорганизмов в группе 1, что может свидетельствовать о формировании экстремильно устойчивых микробных ассоциаций.

Таблица 3.4

Частота выделения и видовой состав микроорганизмов порядка Enterobacteriales, изолированных от пациентов с СДС

Микроорганизмы	группа 1 (ПРМ+) основная n=257	группа 2 (ПРМ-) сравнения n=250	p-значение
	исходно	исходно	P
Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae, n (%)	62 (24,1%)	7 (2,8%)	0,00001
Escherichia coli, n (%)	22 (8,6%)	1 (0,4%)	0,001
Proteus mirabilis, n (%)	10 (3,9%)	12 (4,8%)	0.67

У пациентов группы 1 доминирующим микроорганизмом среди представителей порядка Enterobacteriales являлась Klebsiella pneumoniae, выделена у 62 пациентов (24,1%) (см. таблицу 3.4). Реже встречалась Escherichiacoli - 22 пациентов (8,6%).

У пациентов группы 2 частота выделения грамотрицательных микроорганизмов была существенно ниже.

Таким образом, полученные результаты подчеркивают важность учета микробиологического профиля ран для оптимизации антибактериальной терапии и преодоление резистентности за счет применения принципиаольно иных подходов лечения.

Таблица 3.5

Частота выделения неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов

Микроорганизмы	группа 1 (ПРМ+) основная n=257	группа 2 (ПРМ-) сравнения n=250	p-значение
	исходно	исходно	
Acinetobacter baumannii, n (%)	28 (11%)	2 (0,8%)	0,0001
Pseudomonasaeruginosa, n (%)	37 (14,4%)	18 (7,2%)	0,0035

Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) (см. таблица 3.5) в группе 1 были представлены Acinetobacter baumannii 28 (11%),

Pseudomonas aeruginosae выделены в 37 (14,4%) случаях.

В группе 2 отмечалась более низкая частота выделения этой группы микроорганизмов. Среди них преобладала Pseudomonas aeruginosa – у 18 пациентов (7,2%).

Следует отметить сохраняющуюся высокую суммарную частоту выделения НГОБ среди Гр (-) бактерий при инфекционных осложнениях СДС. Преобладание НГОБ у пациентов группы 1 свидетельствует об отсутствии эффективного лечения на догоспитальном этапе.

Таким образом, инфекции у пациентов с синдромом диабетической стопы носят полимикробный характер. У пациентов с более тяжелым и продолжительным инфекционным процессом актуальность грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов обусловлена высокой частотой встречаемости резистентных форм. Это определяет риск неконтролируемого прогрессирования инфекций, обусловленных полирезистентными микроорганизмами, на фоне их селекции, связанной с тяжелым, длительным инфекционным процессом, сопровождающимся неадекватной антимикробной терапией.

3.2. Резистентность возбудителей инфекционного процесса к антибактериальным препаратам

Распространённость резистентных штаммов Staphylococcus aureus к антибактериальным препаратам у пациентов первой и второй групп представлена в таблице 3.6.

Таблица 3.6

Распространённость резистентных штаммов Staphylococcus spp. к антибактериальным препаратам

Препарат	группа 1 (ПРМ+) Основная n=82	группа 2 (ПРМ-) Сравнения n=112
	исходно	исходно
Бензилпенициллин	82 (100%)	108 (96,7%)
Амоксиклав	82 (100%)	81 (72,5%)
Оксациллин	82 (100%)	0

		Продолжение Таблицы 3.6
Ванкомицин	36 (43,9%)	0
Линезолид	12 (15,2%)	0
Азитромицин	75 (90,9%)	81 (72,5%)
Эритромицин	75 (90,9%)	81 (72,5%)
Линкомицин	75 (90,9%)	0
Клиндамицин	42 (51,5%)	0
Гентамицин	67 (81,8%)	0
Ко-тримоксазол (бисептол)	10 (12,1%)	0
Моксифлоксацин	31 (37,9%)	0
Меропенем	82 (100%)	0
Тигециклин	6 (7,6%)	0
Фосфомицин	31 (37,9%)	0
Ципрофлоксацин	31 (37,9%)	4 (3,6%)

У пациентов группы 1 Staphylococcus spp был резистентен к пенициллину и к оксациллину (MRSA) в 82 (100%) штаммов; к ципрофлоксацину 31 (37,9%), моксифлоксоцину 31 (37,9%), гентамицину 67 (81,8%) штаммов; к эритромицину и линкомицину 75 (90,9%) штаммов соответственно. Выявлены штаммы резистентные к ванкомицину 36 (43,9%) и линезолиду 12 (15,2%).

Полирезистентность грамположительных микроорганизмов у пациентов группы 1 существенно затрудняла проведение эмпирической антимикробной терапии. Группа 1 характеризуется критическим уровнем полирезистентности, требующим обязательного микробиологического мониторинга и применения комбинированных схем терапии.

В группе 2, напротив, большинство штаммов сохраняли чувствительность к ключевым антибиотикам. Резистентность к бензилпенициллину отмечалась у 108 (96,7%) изолятов, к амоксиклаву – у 81 (72,5%), тогда как к оксациллину, ванкомицину, линезолиду и другим препаратам второй линии устойчивости не выявлено. Единичные случаи резистентности зарегистрированы только для ципрофлоксацина 4 (3,6%).

В группе 2 эмпирическая терапия может быть более эффективной благодаря сохраненной чувствительности к большинству антибиотиков.

У всех изолированных штаммов Staphylococcus spp. при проведении ПЦР-исследования был обнаружен ген mecA. Изменения в расположении и/или в

количестве пенициллин-связывающих белков, являются одними из механизмов резистентности к бета-лактамным препаратам [91]. Структурное изменение, например, развитие гена mecA, отвечающего за резистентность у S. aureus, препятствует связыванию антимикробного препарата [122].

Резистентность Enterobacterales к антибактериальным препаратам представлена в таблице 3.7.

Таблица 3.7

Распространённость резистентных штаммов Enterobacterales (Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, E. coli) к антибактериальным препаратам

Препарат	группа 1 (ПРМ+) Основная n=94	группа 2 (ПРМ-) Сравнения n=20
	исходно	исходно
Амоксиклав	84 (89%)	5 (25%)
Гентамицин	71 (75,5%)	0
Амикацин	53 (56%)	3 (6.67%)
Ко-тримоксазол (бисептол)	48 (10%)	0
Моксифлоксацин	51 (30%)	0
Цефоперазон/сульбактам	70 (74,4%)	1 (5%)
Меропенем	67 (71,3%)	0
Тигециклин	67 (71,3%)	0
Фосфомицин	19 (20,2%)	0

В первой группе на стационарном этапе лечения штаммы Enterobacterales наблюдалась крайне тревожная картина антибиотикорезистентности. Особую озабоченность вызывает резистентность к β-лактамным антибиотикам: 84 (89%) штаммов были нечувствительны к амоксиклаву, а 67 (71,3%) - к меропенему, что ставит под вопрос эффективность этих ключевых препаратов в лечении тяжелых инфекций. Высокие показатели резистентности отмечались и к другим классам антибиотиков: 71 (75,5%) -к гентамицину, 67 (71,3%) -к тигециклину, 53 (56%) -к амикацину. Особого внимания заслуживает резистентность к фосфомицину 19 (20,2%) и цефоперазону/сульбактаму 70 (74,4%), которые часто рассматриваются как препараты резерва.

В основной группе выявлена резистентность к карбапенемам (77% к меропенему). Высокие показатели резистентности к тигециклину (71,3%) также

вызывают серьезные опасения, учитывая статус этих препаратов как средств резерва терапии инфекций, вызванных полирезистентными возбудителями.

Таким образом, у пациентов группы 1 Enterobacterales демонстрируют признаки полирезистентности к наибольшему количеству групп антимикробных препаратов.

В группе 2 выраженность резистентности Klebsiella pneumoniae была существенно меньше, что расширяло перечень возможных для применения антимикробных препаратов.

Выявленные различия между группами демонстрируют критическую важность индивидуального подхода к антимикробной терапии и необходимость поиска новых подходов для купирования инфекции обусловленной полирезистентными микроорганизмами.

Для понимания механизмов ерзистетности у изолятов Klebsiella pneumonia изучены генетические маркеры резистентности.

Таблица 3.8

Генетические маркеры резистентности штаммов Klebsiella pneumonia, изолированных от пациентов

Генетические маркеры резистентности штаммов Klebsiella pneumoniae, изолированных от пациентов n=56		
1	ОБМ	-
2	OXA-51-LIKE	11 (20%)
3	CTX-M-1	39 (70%)
4	TEM	36 (65%)
7	OXA-48-LIKE	17 (30%)
8	OXA-40-LIKE	6 (10%)
9	VIM	-
10	KPC	22 (40%)
11	OXA-23-LIKE	6 (10%)
12	NDM	28 (50%)
13	SHV	**56 (100%)**
14	GES	-

Анализ генетических маркеров резистентности у 56 клинических изолятов Klebsiella pneumoniae выявил распространённость механизмов устойчивости. Наиболее значимым оказалось присутствие гена SHV, обнаруженного во всех исследованных штаммах, что объясняет их резистентность к

аминопенициллинам. В 70% случаев выявлен ген CTX-M-1, кодирующий β-лактамазы расширенного спектра. Ген TEM обнаружен у 65% изолятов, что в совокупности обеспечивает устойчивость к цефалоспоринам III-IV поколений.

Особую озабоченность вызывает высокая распространённость генов карбапенемаз: NDM (50%), KPC (40%) и OXA-48-like (30%). При этом 3,8% штаммов одновременно несли гены NDM и OXA-48, а 1,1% - KPC и OXA-48, что значительно ограничивает возможности карбапенемов. Гены OXA-51-like, OXA-40-like и OXA-23-like встречались реже (20%, 10% и 10% соответственно). Важно отметить отсутствие в исследуемой выборке генов VIM и GES.

Таким образом, Klebsiella pneumoniae, выделенная у пациентов 1 группы, демонстрирует разннобразные признаки полирезистентности.

Такая генетическая структура популяции требует пересмотра подходов к антимикробной терапии и разработки новых алгоритмов лечения полирезистной инфекции у больных с СДС.

Таблица 3.9

Харатеристика резистентности у штаммов неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов (Acinetobacter baumannii и P.aeruginosa) к антибактериальным препаратам

Препарат	группа 1 (ПРМ+) Основная n=65	группа 2 (ПРМ-) Сравнения n=20
	исходно	исходно
Амоксициллин	65 (100%)	7 (35%)
Гентамицин	49 (76,5%)	9 (45%)
Амикацин	48 (76,2%)	6 (30%)
Нетилмицин	57 (87,5%)	0
Моксифлоксацин	15 (9,8%)	0
Цефоперазон/сульбактам	64 (99,5%)	8 (40%)
Меропенем	20 (13%)	0
Фосфомицин	25 (38,1%)	0

В работе проведён анализ антибиотикорезистентности неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов (Acinetobacter baumannii и Pseudomonas aeruginosa). В группе 1 все исследованные изоляты демонстрировали полную

резистентность к амоксициллину, 98,5% штаммов были устойчивы к цефоперазону/сульбактаму - препарату, традиционно используемому для лечения тяжёлых инфекций. Отмечена крайне высокая резистентность к аминогликозидам: 75,4% для гентамицина, 73,8% для амикацина и 87,7% для нетилмицина, что существенно ограничивает возможности антимикробной терапии.

Оценка устоячивости к препаратам резерва - 38,5% штаммов устойчивы к фосфомицину. Единственным относительно эффективным препаратом остаётся меропенем, к которому резистентность была - 30,8%. Низкие показатели резистентности к моксифлоксацину (23,1%) не могут компенсировать общую негативную картину.

В группе 2 чувствительность к антибиотикам штаммов принципиально иная. Резистентность к амоксициллину составила - 35,0%, к гентамицину - 45,0%, к амикацину - 30,0%, к цефоперазону/сульбактаму - 40,0%. При этом сохраняется высокая чувствительность к нетилмицину, моксифлоксацину, меропенему и фосфомицину.

Эти данные подчёркивают необходимость строгого соблюдения принципов рациональной антибиотикотерапии и разработки новых подходов к лечению инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами.

Таблица 3.10

Генетические маркеры резистентности штаммов Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa

	Генетические маркеры	Acinetobacter baumannii n=28	P.aeruginosa n=37
1	OXA-51-LIKE	28 (100%)	-
2	CTX-M-1	-	-
3	TEM	-	-
4	OXA-48-LIKE	-	-
5	OXA-40-LIKE	21 (75%)	-
6	VIM	-	-
7	KPC	-	-
8	OXA-23-LIKE	21 (75%)	-
9	NDM	-	26 (70%)
10	GES	13 (45%)	17 (45%)

Исследование генетических механизмов резистентности у Acinetobacter

baumannii и Pseudomonas aeruginosa выявил значительные различия в профилях устойчивости между этими возбудителями.

Среди 28 исследованных штаммов A. baumannii обнаружена абсолютная (100%) распространённость гена OXA-51-like, что является характерной видовой особенностью. При этом три четверти изолятов (75%) одновременно продуцировали карбапенемазы OXA-23-like и OXA-40-like, что объясняет их устойчивость к карбапенемам. Почти половина штаммов (45%) дополнительно экспрессировали БЛРС GES-типа, обеспечивающие резистентность к цефалоспоринам.

В отличие от A. baumannii, у 37 штаммов P. aeruginosa преобладали иные механизмы резистентности. Основную угрозу представляли металло-β-лактамазы NDM, выявленные у 70% изолятов. Почти половина штаммов (45%) также продуцировали БЛРС GES-типа. При этом гены OXA-48-like и KPC в данной выборке не обнаружены.

Клинически эти генетические особенности проявлялись по-разному. Для A. baumannii характерна практически полная устойчивость к β-лактамам при сохранении ограниченной чувствительности к колистину и тигециклину. В случае P. aeruginosa отмечалась высокая резистентность к аминогликозидам (66,7% к амикацину, 53,8% к гентамицину, 75% к нетилмицину) и цефоперазону/сульбактаму (60%), при этом сохранялась чувствительность к пиперациллин/тазобактаму.

Полученные данные имеют важные клинические последствия:

1. При инфекциях, вызванных A. baumannii, требуется:
   - использование комбинаций колистина с карбапенемами или тигециклином;
   - обязательное молекулярное типирование при подозрении на карбапенемазную активность.
2. При P. aeruginosa рекомендуется:
   - ограничить применение аминогликозидов в монотерапии;
   - отдавать предпочтение комбинациям фторхинолонов с β-лактамами;

- усилить контроль за распространением NDM-продуцирующих штаммов.

Выявленные особенности резистентности объясняют:

- низкую эффективность стандартной эмпирической терапии;
- длительное заживление ран;
- повышенный риск ампутаций (в 3,8 раза выше при инфекциях связанных с полирезистентными штаммами).

Полученные результаты подчёркивают необходимость дифференцированного подхода к терапии инфекций, вызванных этими возбудителями, и важность постоянного мониторинга их антибиотикорезистентности. Таким образом, у пациентов группы 1 наиболее устойчивыми к антимикробным препаратам были S.aureus (MRSA), Enterobacteriacae, Acinetobacter baumannii и Pseudomonas aeruginosa. Высокая частота их встречаемости обуславливает неэффективность эмпирической антимикробной терапии, неблагоприятное течение раневого процесса и сочетается с высоким риском ампутации, что определяет необходимость принципильно новых подходов.

3.3. Факторы риска развития полирезистентной раневой инфекции у больных с синдромом диабетической стопы

В работе проанализированы факторы риска, связанные с развитием полирезистентной инфекции у пациентов с СДС (см. таблицу 3.11).

Таблица 3.11

Факторы риска развития полирезистентной инфекции у больных СДС

Фактор риска	ОШ	ДИ	Р
ИМТ ≤30	1,22	0,85–1,72	0,284
Длительность диабета >10 лет	1,56	1.07–2,28	0,02
Длительность язвенного анамнеза 5>лет	2.47	1.50–3.90	0,001
Показатели степени компенсации СД HbA1c >6,8%	1,5	0,8–2,2	0,027
Рецидивы ТЯ< 1 года	6,28	4,02-9,81	0,001

		Продолжение Таблицы 3.11	
Применение антибиотиков до госпитализации	2,8	1,31-5,93	0,006
Глубина язвы до кости	2,36	1,69-3,28	0,001
Степень инфицирования (WI-FI) 3	1,82	1,34-2,48	P=0,001
Операции на стопах в анамнезе	2,2	1,52-3,14	0,001
Отсутствие наблюдения у врача хирурга (подиатра)	3,84	2,28-6,47	0,001

Проведенное исследование выявило ключевые клинические и анамнестические факторы, достоверно ассоциированные с повышенным риском формирования полирезистентных инфекций у пациентов с синдромом диабетической стопы. Установлено, что продолжительность течения сахарного диабета свыше 10 лет увеличивает вероятность развития устойчивых инфекционных осложнений, о чем свидетельствует отношение шансов 1,56 при статистически значимом уровне p=0,02. Особую значимость приобретает длительность язвенного анамнеза – у пациентов с трофическими нарушениями продолжительностью более 5 лет риск полирезистентности возрастает в 2,47 раза (p=0,001).

Важным предиктором оказался уровень гликемического контроля: у больных с показателем HbA1c выше вероятность развития устойчивых инфекций повышается в 1,5 раза (p=0,027). Наибольшую угрозу представляют рецидивирующие язвенные поражения - при повторных эпизодах в течение года риск полирезистентности возрастает в 6,28 раза (p=0,001). Существенную роль играет предшествующая антибиотикотерапия - пациенты, получавшие антимикробные препараты до госпитализации, имеют в 2,8 раза более высокий риск формирования резистентной микрофлоры (p=0,006).

Глубина язвенного поражения является значимым прогностическим фактором. Так при вовлечении костных структур вероятность полирезистентной инфекции увеличивается в 2,36 раза (p=0,001). Тяжесть инфекционного процесса, оцениваемая по шкале WI-FI 3 степени,

ассоциирована с повышением риска в 1,82 раза (p=0,001). Хирургические вмешательства в анамнезе и необходимость регулярного наблюдения у хирурга или подиатра демонстрируют устойчивую корреляцию с развитием резистентных инфекционных осложнений с отношениями шансов 2,2 и 3,84 соответственно (p=0,001 в обоих случаях).

Полученные данные о разнообраности причин, обуславливающих риски развития полирезистеной инфекции и подчеркивают необходимость комплексного подхода к ведению пациентов с СДС. Особое внимание следует уделять больным с длительным анамнезом заболевания, рецидивирующими и глубокими язвенными поражениями, а также пациентам, перенесшим хирургические вмешательства на стопе.

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТАРГЕТНОЙ БАКТЕРИОФАГОТЕРАПИИ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СДС

4.1. Актуальность исследования

Язвы и гнойные раны у больных с СДС представляют собой наиболее опасное осложнение, которое становится причиной ампутаций и многократных госпитализаций. Заживление ран у больных сахарным диабетом обычно характеризуется медленным течением раневого процесса. Это предопределено сочетанием множества факторов, в том числе: диабетической невропатией, ангиопатией и инфекцией, обусловленной микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью.

Острая необходимость преодоления полирезистентных бактериальных инфекций подчеркивает важность разработки новых лечебных стратегий, предлагающих безопасные и эффективные альтернативы традиционным антибиотикам. Бактериофаготерапия уже давно рассматривается как перспективный подход для борьбы с инфекциями, вызванными MDR микроорганизмами. Однако ее роль в лечении полимикробных инфекций СДС, остается недостаточно изученной. Это направление требует дальнейших исследований и разработок, чтобы определить оптимальные протоколы применения бактериофагов, их эффективность и безопасность в условиях сложных полимикробных инфекций. Углубленное изучение бактериофаготерапии может открыть новые горизонты в лечении инфекций, устойчивых к традиционным методам терапии.

Повышенный интерес к таргетной персонифицированной бактериофаготерапии связан с появлением панрезистентных «супербактерий», определяющих инфекционный процесс у больных с СДС.

Таким образом, текущая работа направлена на изучение влияния местного применения бактериофагов на купирование инфекционного

процесса, обусловленного полирезистентными микроорганизмами, а также на динамику заживления ран у больных СДС.

4.2. Объекты исследования

В исследование включены больные группы 1 с ранами/трофическими язвами СДС, осложненных полирезистентной инфекцией. Пациентам в первые-третьи сутки госпитализации выполнены оперативные вмешательства на стопах: вскрытие, дренирование гнойного очага или ампутации в пределах стопы в зависимости от глубины поражения.

Пациенты разделены на две подгруппы.

Подгруппа 1 включала пациентов, которым в комплекс лечения по единым международным и отечественным стандартам включена персонифицированная фаготерапия n=104.

Подгруппа 2 включала пациентов, которым в комплекс лечения не была включена персонифицированная фаготерапия n=85 (табл.4.4).

Критерии включения в клиническое исследование:

- открытые послеоперационные раны;
- длительно-существующие трофические язвы;
- инфекционный процесс II-III ст. (классификация WIFI);
- лабораторно подтвержденное наличие патогенов в раневом материале, обладающих полирезистентностью к антимикробной терапии.
- положительный подбор бактериофагов к полирезистентным микроорганизмам.

Критерии исключения из клинического исследования:

- декомпенсация СД с кетоацидозом;
- наличие признаков органной дисфункции;
- наличие толерантности к проводимой инсулинотерапии;
- декомпенсация хронических сопутствующих заболеваний;
- системные и онкологические заболевания;

- поливалентная аллергия
- отрицательный результат подбора бактериофагов к полирезистентным микроорганизмам.

Лечебная эффективность фаготерапии оценивали по следующим критериям:

- полное исчезновение всех субъективных и объективных клинических признаков острого воспаления;
- уменьшение клинических проявлений или отсутствие прогрессирования признаков острого воспаления по данным объективных исследований.

Микробиологическая эффективность оценивалась после завершения курса фаготерапии по следующим критериям:

- элиминация возбудителя – прекращение высева возбудителя из очага первичной локализации инфекции;
- снижение колонийобразующих единиц в очаге инфекции штамма-мишени.

Все пациенты получали лечение по единым международным и отечественным рекомендациям (хирургическая обработка ран, перевязки атравматическими повязками, разгрузка стоп с помощью индивидуальных разгрузочных повязок, антибактериальная терапия).

Методика местного применения БФ

За период 2018 – 2024 гг. в МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского были подобраны бактериофаги к 104 полирезистентным изолятом.

В работе были использованы лекарственные препараты бактериофагов производства АО «НПО «Микроген», зарегистрированные на территории РФ (таблица 4.1), а также бактериофаги из коллекции НМЦ по изучению и идентификации бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (таблица 4.2).

Таблица 4.1

Лекарственные препараты бактериофагов производства АО «НПО «Микроген», применяемые в работе

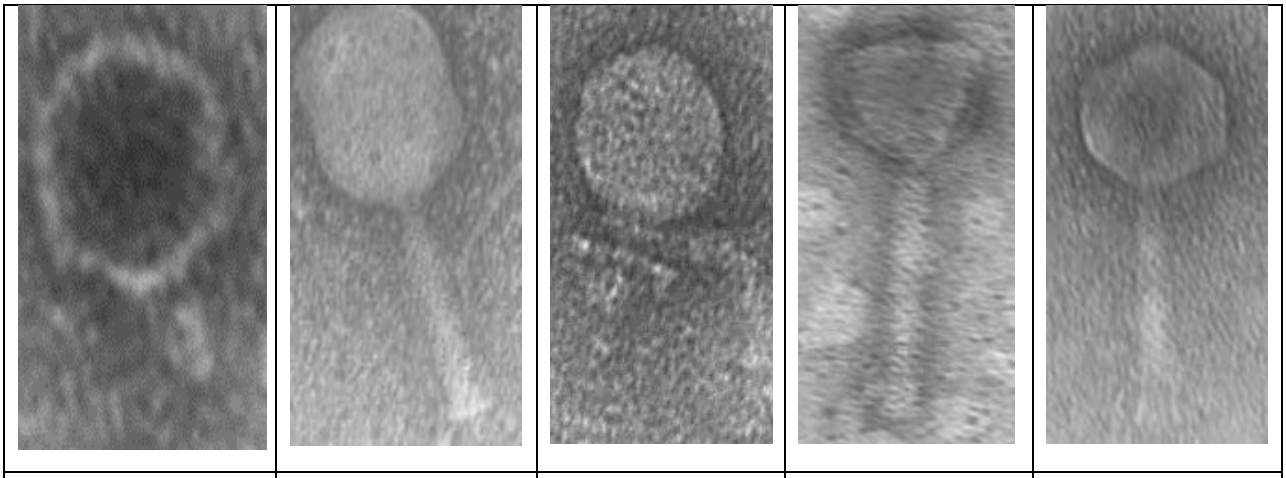
Препарат	Регистрационный номер	Лекарственная форма
Пиобактериофаг поливалентный	ЛС-002031	раствор для приема внутрь, местного и наружного применения
Клебсифаг^{R}	ЛС-001361	
Бактериофаг Pseudomonas aeruginosa (синегнойный)	Р N001976/01	
Клебсиелл поливалентный очищенный	ЛС-001361	
Секстафаг^{R}	ЛС-001049	
Бактериофаг клебсиелл пневмонии очищенный	ЛС-001297	

Таблица 4.2

Бактериофаги из рабочей коллекции НМЦ по изучению и идентификации бактериофагов, используемые в работе

Наименование бактериофага	Номер в рабочей кол-ции	Таксономическая принадлежность	Номер депонирования в GenBank
Pseudomonas phage	Ф3	Порядок Caudovirales, Семейство Myoviridae, Род Pbunavirus	KY000082.1
Pseudomonas phage	Ф2	Порядок Caudovirales, Семейство Myoviridae, Род Pbunavirus	KY000084.1
Pseudomonas phage	Ф11	Порядок Caudovirales, Семейство Myoviridae, Род Phikzvirus	MK599315
Staphylococcus phage	Ф7	Порядок Caudoviricetes, Семейство Rountreeviridae, Род Rosenblumvirus	KY000084.1
Staphylococcus phage	Ф25	Порядок Caudoviricetes, Семейство Herelleviridae, Род Kayvirus	MK331931.1
Staphylococc usphage	Ф19	Порядок Caudoviricetes, Семейство Herelleviridae, Род: Kayvirus	MK331930.1
Acinetobacter phage	Ф25	Порядок Caudoviricetes, Семейство Myoviridae	KY000079.1
Klebsiella pneumoniae phage	Ф1	Порядок Caudoviricetes, Семейство Autographiviridae, Род: Drulisvirus	KY000081.1
Klebsiella pneumoniae phage	Ф4	Порядок Caudoviricetes, Семейство Straboviridae, Род Jiaodavirus	KY000080.1
Enterococcus faecalis phage	Ф10	Порядок Caudoviricetes, Семейство Siphoviridae, Род:Saphexavirus	MK800154

На рис. 4.1 представлены электронные фотографии некоторых бактериофагов, входящих в коктейли или монопрепараты на основе бактериофагов. Бактериофаги были разрешены к применению Этическим комитетом (протоколом №06-18 Межвузовского Комитета по этике от 14.06.2018 г.).



Staphylococcus Phage Ф7	Klebsiella phage Ф4	Klebsiella phage Ф1	Pseudomonas phage Ф3	Acinetobacter phage Ф25

Рис. 4.1 Электронные микрофотографии бактериофагов из рабочей коллекции НМЦ по изучению бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского

Бактериофаги из коллекции НМЦ по изучению и идентификации бактериофагов МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского не содержат гены интеграз, репрессоров транскрипции и других генов, характерных для умеренных бактериофагов. В них не обнаружены также и известные локусы патогенности, кодирующие бактериальные токсины штаммов-хозяев, антибиотикорезистентности и прочие нежелательные гены.

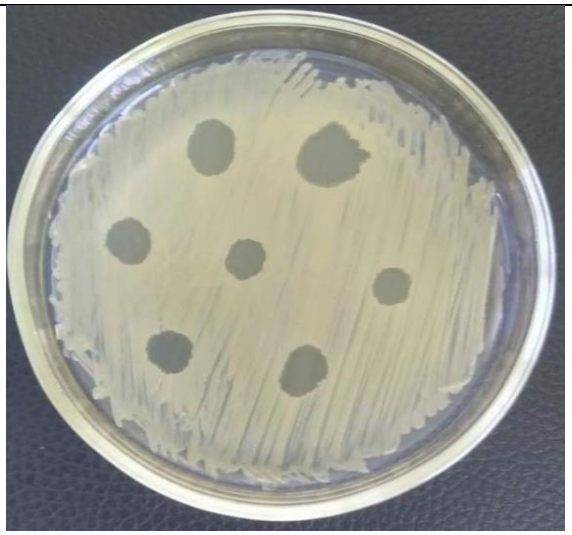
Для определения чувствительности полирезистентных патогенных бактериальных штаммов к бактериофагам использовали двухэтапный метод, позволяющий отобрать штаммы бактериофагов, способные к репликации на бактерии-мишени in vivo:

– на первом этапе: используют метод spot-теста. Получают бактериальный газон на плотной 1,5 % питательной среде в чашке Петри. Отбирают бактериофаги или бактериофаг, под воздействием которых происходит полный или частичный лизис бактериального

газона или, если в зоне нанесенного пятна есть отдельные негативные колонии;

– на втором этапе: отобранный бактериофаг или бактериофаги в объеме 10-50 мкл капали на газоны бактериальных штаммов, нанесенных на поверхность питательного агара в полужидком (0,6 %-ном) агаре, первым слоем является 1,5-2,0 % агаризованная среда в чашке Петри. Бактериофаги предварительно готовят в десятикратных разведениях (исходный титр около 1010 БОЕ/мл) в буферном растворе в 96-луночном планшете (максимальное разведение 105). Бактериофаги следует наносить в титре, обеспечивающем множественность инфицирования (MOI) в диапазоне от 0,01 до 1, с учетом титра бактерии-мишени, выделенной из очага инфекции (модифицированный метод Грация).

Второй этап позволяет оценить эффективность фаговой инфекции, показывая размножение бактериофага на конкретном изоляте при его попадании in vivo в очаг воспаления в титре, соизмеримом с концентрацией вирионов в растительном испытуемом препарате (рисунок 4.2).



1 этап: spot-тест при подборе бактериофагов



2 этап: результат модифицированного метода Грациа

Рис. 4.2. Результаты двухэтапного подбора бактериофагов в рамках персонализированной фаготерапии

Данный метод двухэтапного определения чувствительности выделенных микроорганизмов к тестируемым фагам позволяет исключить все сомнительные случаи, отобрать препараты или штаммы бактериофагов, способные к репликации на бактерии-мишени in vivo (Методические указания №105 Департамента здравоохранения города Москвы: Персонализированная фаготерапия пациентов, страдающих инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП), Москва, 2020).

4.3. Результаты исследования

По результатам комбинированного лечения пациентов с применением персонализированной фаготерапии получен патент на изобретение RU 2 782 801 C1 «Способ комбинированного лечения трофических язв с мультирезистентной микрофлорой при синдроме диабетической стопы».

Таблица 4.3

Микроорганизмы, для которых были подобраны бактериофаги, включенные в исследования.

	N- 144 изолята/ подобр БФ 104	Среднее микробное число	Продукт	Лизогеннный эфект,%
1. Staphylococcus aureus	63 чув.62/уст.1	10^6	Бактериофаги были подобраны в 98 % случаев	нет
2. Pseudomonas aeruginosa	26 чув.20/ уст.6	10^7	Бактериофаги были подобраны в 80 % случаев	15 % (6 штаммов из 26 были с профагом)
3. Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae	22 чув.10/ уст.12	10^5	Бактериофаги были подобраны в 55 % случаев	9 % (2 штамма из 22 были с профагом)
4. Acinetobacter baumannii	10 чув.2/ уст.8	10^7	Бактериофаги были подобраны в 20 % случаев	нет
5. Escherichia coli	9 чув.2/ уст.7	10^6	Бактериофаги были подобраны в 22 % случаев	нет
6. Proteus mirabilis	2 чув.2/ уст.0	10^6	100 %	нет
7. Enterococcus faecalis	12 чув.6/ уст.6	10^7	Бактериофаги были подобраны в 50 % случаев	нет

× - в препараты на основе бактериофагов не входят штаммы фагов против эпидермального

стафилококка

Бактериофаги подбирали к полирезистентным микроорганизмам для повышения эффективности комбинированного лечения.

К 104 (63,4%) изолятам были подобраны препараты фагов, способных к размножению на бактериях-мишенях.

В 35 случаях эффективными в отношении выделенных патогенов были препараты НПО «Микроген» (Пиобактериофаг поливалентный очищенный, Секстафаг, Бактериофаг клебсиелл поливалентный очищенный, Бактериофаг синегнойный), в 69 случаях – бактериофаги из рабочей коллекции МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского: Staphylococcus phage: Ф7, Ф19, Ф25; Klebsiella phage: Ф1, Ф4, Ф52; Pseudomonas phage Ф2, Ф3, Ф11, Ф32; Acinetobacter phage Ф5; Enterococcus phage Ф10 (в соответствии с протоколом №06-18 Межвузовского Комитета по этике от 14.06.2018г.).

Чувствительные к фагам бактерии составляли: 98 % для St. aureus, 80 % - P. aeruginosa, 55% - Kl. pneumoniae, 60 % для Ent. faecalis 50% и 20 % для Acinetobacter baumannii.

4.4. Бактериологическое исследование – оценка динамики изменений микробной обсемененности раны (общее микробное число)

Проведение качественного и количественного анализов микрофлоры раны проводилось во время перевязок из области дна или краев раны до начала применения бактериофагов, а также на 6-е, и для оценки результата у пациентов с продолженным ростом – на 10-е сутки от начала лечения.

Таблица 4.4

Сводная таблица лабораторной оценки эффективности применения бактериофагов у больных с ТЯ СДС

		Лизоген. эф-т, %	группа 1 (ПРМ+БФ+) n=104			группа 2 (ПРМ+БФ-) n=85			P
			n	до лечения	10 сутки	n	до лечения	10 сутки	
1	Staphylococcu saureus	-	62	6,67±0,3	2,48±0,3	36	8,76±0,6	4,58±0,5	<0,05

Продолжение Таблицы 4.4

2	Pseudomonas aeruginosa	6	20	8,78±0,4	4,6±0,4	12	8,40±0,5	7,6±0,46	<0,01
3	Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae	2	10	9,33±0,4	4,67±0,4	8	9,68±0,5	6,76±0,4	<0,05
4	Proteus mirabilis	-	2	8,02±0,4	1,44±0,4	3	6,97±0,4	4,52±0,3	<0,01
5	Enterococcus faecalis	-	6	7,31±0,4	3,54±0,3	11	7,82±0,4	5,14±0,3	<0,01
6	Acinetobacter baumannii	-	2	6,72±0,3	2,02±0,4	6	6,36±0,4	4,54±0,3	<0,05
7	Escherichia coli	-	2	6,54±0,2	1,78±0,4	9	8,3±0,4	6,41±0,3	<0,01

Примечание: p – уровень значимости при сравнении показателей на 10-е сутки между группами 1 и 2.

Проведённое исследование продемонстрировало, что применение бактериофагов в комплексном лечении не привело к полной элиминации полирезистентных микроорганизмов из области раны. В отношении ключевых грамотрицательных патогенов – Klebsiella pneumoniae и Pseudomonas aeruginosa – бактериофаги оказались недостаточно эффективными. Несмотря на снижение уровня микробной обсеменённости на 4-5 порядков, с клинической точки зрения он оставался в пределах критического уровня 10^5 КОЕ/мл.

В группе фаготерапии у пациентов с инфекцией, вызванной Pseudomonas aeruginosa, отмечено снижение микробной нагрузки с 8,78±0,4 до 4,60±0,4 lg КОЕ/мл, тогда как в контрольной группе – с 8,40±0,5 до 7,60±0,46 lg КОЕ/мл ($p<0,01$). Аналогичная динамика наблюдалась при инфекции, вызванной Klebsiella pneumoniae: в группе фаготерапии уровень обсеменённости снизился с 9,33±0,4 до 4,67±0,4 lg КОЕ/мл, в контроле – с 9,68±0,5 до 6,76±0,4 lg КОЕ/мл ($p<0,05$). Таким образом, в 25% случаев отмечено снижение титра микробной обсеменённости, недостаточное для

надежного купирования бактериальной инфекции и ликвидации острого воспаления.

В отношении остальных патогенов (Escherichia coli, Proteus mirabilis, Acinetobacter baumannii, Staphylococcus aureus) к 10-м суткам лечения достигнуто существенное снижение микробной обсеменённости на 5 и более порядков. В группе фаготерапии при инфекции, вызванной Escherichia coli, уровень обсеменённости снизился с 6,54±0,2 до 1,78±0,4 lg КОЕ/мл, в контроле – с 8,30±0,4 до 6,41±0,3 lg КОЕ/мл ($p<0,01$). При инфекции, вызванной Proteus mirabilis, в группе фаготерапии отмечено снижение с 8,02±0,4 до 1,44±0,4 lg КОЕ/мл, в контроле – с 6,97±0,4 до 4,52±0,3 lg КОЕ/мл ($p<0,01$). Для Acinetobacter baumannii в группе фаготерапии уровень обсеменённости снизился с 6,72±0,3 до 2,02±0,4 lg КОЕ/мл, в контроле – с 6,36±0,4 до 4,54±0,3 lg КОЕ/мл ($p<0,05$). Это обеспечивало купирование инфекционного процесса, обусловленного полирезистентной микрофлорой, а также способствовало снижению риска селекции новых полирезистентных штаммов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в 27% случаев не удаётся подобрать активные фаги по отношению к полирезистентным микроорганизмам, определяющим инфекционный процесс у больных СДС. Антимикробный эффект фаготерапии характеризуется отсутствием полной элиминации микробов-мишеней из гнойного очага. В работе выявлена различная степень эффективности бактериофагов в отношении грамотрицательных бактерий, являющихся ключевыми среди полирезистентных микроорганизмов при инфекциях СДС.

Таким образом, микробиологическая и, следовательно, клиническая эффективность персонализированной фаготерапии носит переменный характер в связи с риском отсутствия целевых показателей снижения уровня микробной обсеменённости по причине фактического отсутствия чувствительного штамма бактериофага в коллекции (27% случаев), а также возможностью развития лизогенного эффекта (8% случаев). Дополнительно необходимо отметить, что технология подбора бактериофагов требует

продолжительного периода времени (6–8 дней), что часто превышает сроки, необходимые для начала противомикробной терапии ургентных больных. Поэтому показания к персонализированной фаготерапии, на наш взгляд, сужаются до использования этой методики у пациентов вне острого периода инфекционного процесса.

4.5. Оценка динамики синдрома системного воспалительного ответа (SIRS) на фоне фаготерапии

Оценка динамики SIRS проводилась на основе анализа уровня лейкоцитов, незрелых форм полиморфноядерных лейкоцитов, динамики СРБ, а также уровня температуры тела. Полученные данные представлены в таблице 4.5.

Таблица 4.5

Лабораторные показатели выраженности синдрома системной воспалительной реакции

Показатель	Группа							
	группа 1 (ПРМ+БФ+) n=104				группа 2 (ПРМ+БФ-) n=85			
	До начала лечения/ апробации	3-и сут.	7-е сут.	10-е сут.	До начала лечения/ апробации	3-и сут.	7-е сут.	10-е сут.
Лейкоциты, 10^9/л	18,3±0,9	19,5±0,9*	12,2±0,9*	8,7±0,9*	18,7±1,3	17,6±0,4*	15,2±0,5*	12,3±0,7*
Палочкоядерные нейтрофилы, %	13,6±0,4	10,1±0,4	7,6±0,4*	5,6±0,4*	12,8±0,1	11,9±0,8	10,5±0,7*	6,9±0,6*
СРБ, г/л	24,8±1,2	19,8±1,2	12,6±1,2*	7,4±1,2*	23,2±1,8	21,2±1,3	19,8±1,3*	15,8±0,6*
t, °C	38,9±0,9	39,2±0,9	37,6±0,9*	36,7±0,9*	38,6±0,5	38,7±0,8	37,8±0,8	37,4±0,8

* $p<0.05$ между сходными показателями обеих групп

Наглядно продемонстрировано значимое снижение уровня палочкоядерных нейтрофилов уже на 7-е сутки лечения в группе использования фаготерапии с нормализацией их уровня на 10-е сутки лечения. Отчетливая положительная динамика лечения пациентов в группе 1 нашла отражение и в динамике уровня СРБ, средний показатель которого

был сходным в группах на протяжении всего периода наблюдения, и от момента начала фаготерапии имел тенденцию достоверного снижения. Динамика уровня температуры тела пациентов в группе на фоне фаготерапии показала значимое снижение среднего показателя до субфебрильных значений на 7-е сутки, а нормализацию - на 10-е сутки.

Таким образом, фаготерапия продемонстрировала значимое улучшение лейкоцитарной формулы (начиная с 7-х суток лечения), снижение (нормализация) температуры тела и СРБ ($p<0,05$), тогда как абсолютные значения уровня лейкоцитов в обеих группах статистически не отличались, но имели тенденцию к снижению на фоне комплексного лечения.

4.6. Обсуждение результатов

Возрастающая резистентность микроорганизмов препятствует эффективному лечению пациентов с бактериальными инфекциями. Для преодоления этой проблемы применяют комбинированную антибиотикотерапию, а также внедряют комплексное лечение, включающее совместное использование бактериофагов и антибиотиков. Такая тактика способствует преодолению устойчивости бактериальных штаммов и расширению терапевтического спектра антимикробной активности. Один из подобных методов комбинированного лечения применен в нашей работе при лечении гнойных ран с мультирезистентной микрофлорой у больных с СДС.

В настоящее время одним из передовых методов решения данной проблемы является персонализированный подбор бактериофагов при местном лечении гнойных язвенных дефектов.

Возможность применения бактериофагов в современном стационаре не должна рассматриваться в виде монотерапии инфекционного очага. Подходы к лечению вирулентными бактериофагами необходимо использовать в совокупности с антибактериальными средствами. У пациентов с характером прогрессирующего инфекционного процесса, отсутствием времени для определения чувствительности и подбора препаратов на первом этапе наиболее правильным решением будет применение антибиотиков широкого

спектра действия. После стабилизации процесса и получения результатов чувствительности, в том числе к батериофагам, антимикробная терапия может быть уточнена и расширена за счет бактериофаготерапии. В ситуациях хронической инфекции, вызванной бактериями с полирезистентными бактериальными штаммами к антибиотикам, дополняется фаготерапия с таргетной направленностью.

Полученные в рамках, проведенных исследований результаты подтвердили предположение, что при разработке лекарственных форм бактериофагов нельзя придерживаться классического пути разработки лечебно-профилактических продуктов бактериофагов - стратегии фиксированного штаммового состава коктейля. Во-первых, влияние антибиотиков и дезинфектантов на патогенные микроорганизмы, особенно в замкнутой экологической нише больничных учреждений, ускоряет эволюционный процесс в направлении формирования штаммов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. Следовательно, изменение штамма возбудителя требует внесения изменений и в штаммовый состав фагового коктейля для поддержания необходимого уровня спектра его литической активности. Во-вторых, снижение клинической эффективности используемого фагового коктейля может возникать при проведении и первичного, и повторного курса препаратом того же штаммового состава у одного и того же пациента. Решением возникшей проблемы является индивидуальный подбор бактериофагов активных в отношении инфекционного патогена, выделенного у конкретного больного.

Сущность разработанного способа лечения трофических язв у больных с СДС, включающего местную и инфузионную терапию, заключается в том, что при первичном обращении пациента до начала терапии проводят бактериальный посев отделяемого из раны с определением чувствительности, обнаруженных патогенов, к антибактериальным препаратам и персонализированным подбором бактериофагов.

Такой подход позволяет уменьшить сроки снижения бактериальной обсемененности раневого дефекта и купирования инфекцинного процесса.

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОЙ АРГОНОВОЙ ПЛАЗМЫ ДЛЯ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СДС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

5.1. Актуальность исследования

Разработка методов лечения, основанных на физических факторах, является альтернативным подходом, когда антимикробные препараты становятся малоэффективными из-за растущей резистентности патогенных микроорганизмов. Одним из таких видов местного лечения с выраженными бактерицидными свойствами является низкотемпературная плазма [153, 168, 180].

Поэтому целью данного исследования была оценка выживаемости патогенных микроорганизмов и пролиферация фибробластов в модели in vitro, особенностей раневого процесса у больных СДС после воздействия факторов НТАП.

5.2. Оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость микроорганизмов и их ассоциаций in vitro

Целью исследования являлась оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость микроорганизмов и их ассоциаций in vitro в отношении потенциально патогенных микроорганизмов, выделенных от пациентов с раневой поверхности.

5.2.1. Исследования, проведенные с применением эталонных музейных культур

Первый этап исследования проводили с музейными культурами в 3 вариантах воздействия для каждой комбинации, включающей расстояние и время воздействия НТАП.

В эксперименте применяли суточные музейные эталонные культуры E. coli ATCC 10536, K. Pneumoniae subsp. pneumoniae ATCC 700603, S. aureus 906, P. Aeruginosa ATCC 10145, E. faecalis ATCC 29212, E. faecium 9/63,

грибы C. albicans 24433 ATCC из рабочей коллекции ФГБУ «ЦСП» ФМБА России. Все культуры были с подтверждёнными биохимическими свойствами. Все эталонные культуры имели паспорта и приобретены из национальных и государственных коллекций. Культуры хранились в рабочей коллекции в криозащитной среде в низкотемпературных морозилках при минус 70^0 С.

Суточные культуры, были выращены на плотных питательных средах:

- E. coli ATCC 10536, K. Pneumoniae subsp. pneumoniae ATCC 700603, P. Aeruginosa ATCC 10145 на среде Эндо;
- S. aureus 906 на желточно-солевом агаре;
- E. faecalis ATCC 29212, E. faecium 9/63 на энтерококк агаре;
- C. albicans 24433 ATCC на среде Сабуро.

Посевы культур музейных эталонных микроорганизмов обрабатывались сразу после посева на чашку Петри. Содержание микроорганизмов в инокуляте 10^8-10^9 КОЕ/мл.

Обработке подлежали секторы посевов с прилегающими областями, попадающими в пятно освещенности. При обработке использовали режим Б2 на каждую культуру при значениях Фактора Т – 15 сек, 30 сек и 45 сек и Фактора L – 10, 15 и 20 см.

В эксперименте контрольная группа была составлена также из семи образцов, по одному на каждую культуру и факторами НТАП не обрабатывалась.

Таблица 5.1

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcus faecalis ATCC 29212

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %
1.	15 сек	4	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,9995
2.		0	100	10^2	99,9999	10^3	99,9995
3.		0	100	10^2	99,9999	10^3	99,9995
4.		0	100	10^2	99,9999	10^3	99,9995
5.		0	100	10^2	99,9999	10^3	99,9995
1.	30 сек	5	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999

		Продолжение Таблицы 5.1					
2.		0	100	10^2	99,9999	10^2	99,9999
3.		0	100	10^2	99,9999	10^2	99,9999
4.		0	100	0	100	10^2	99,9999
5.		0	100	10^2	99,9999	10^2	99,9999
1.	45 сек	0	100	0	100	10^2	99,9999
2.		0	100	0	100	10^2	99,9999
3.		0	100	0	100	10^2	99,9999
4.		0	100	0	100	10^2	99,9999
5.		0	100	0	100	10^2	99,9999
Контроль		$2x10^8$		$2x10^8$		$2x10^8$	

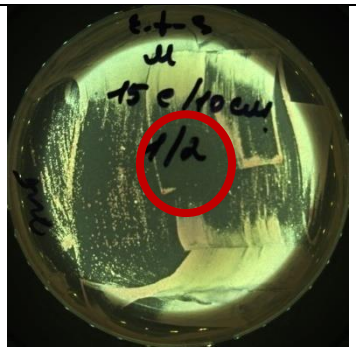
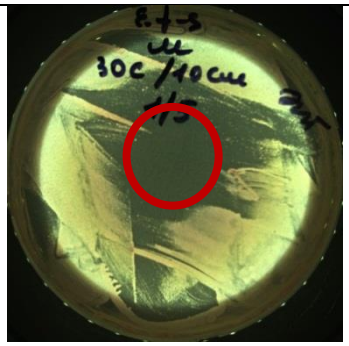
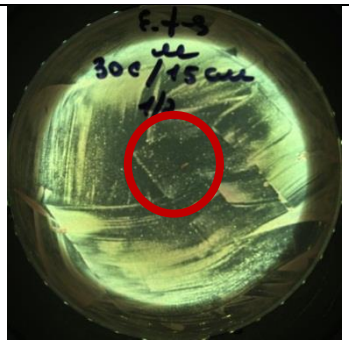
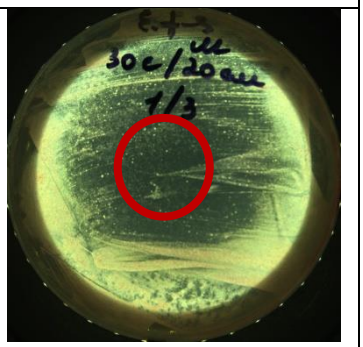
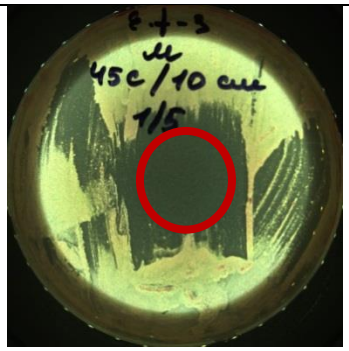
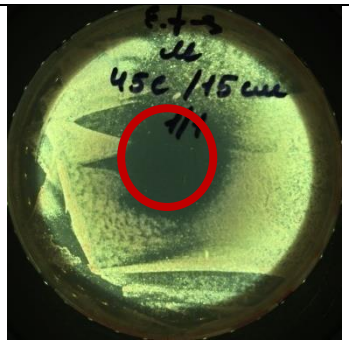
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15 сек			
30 сек			
45 сек			

Рис. 5.1. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcusfaecalis ATCC 29212.

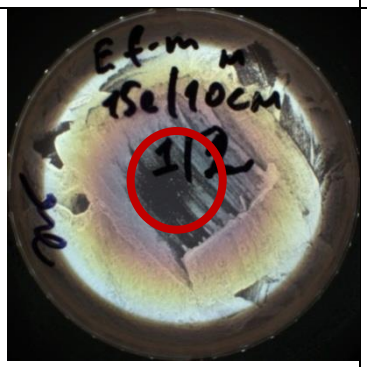
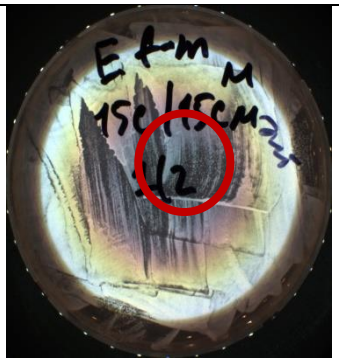
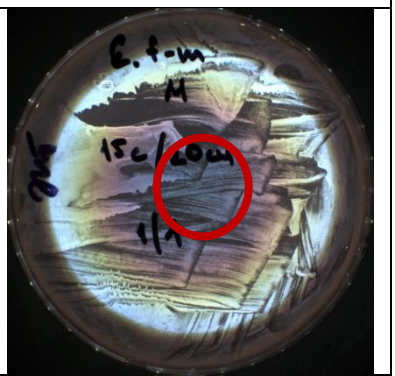
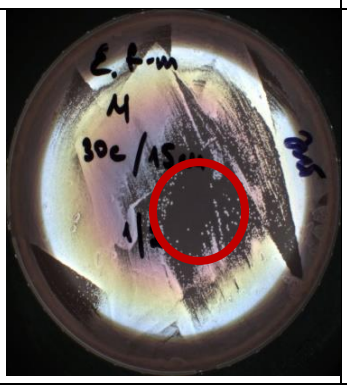
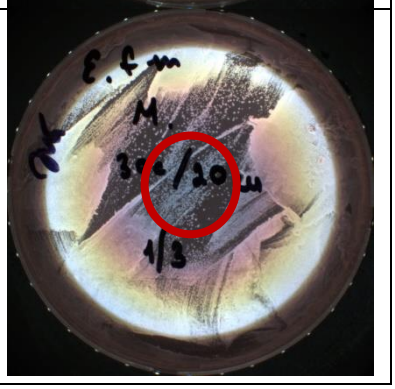
В ходе эксперимента с эталонными музейными штаммами была продемонстрирована стопроцентная эффективность подавления роста

бактерий Enterococcus faecalis ATCC 29212 при обработке НТАП на расстоянии 10 см (в течение 15, 30 и 45 секунд) и 15 см (45 секунд), что подтвердило высокую результативность метода.

Таблица 5.2

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcus faecium 9/63

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %
1.	15сек	10	99,9999	10^3	99,999	10^3	99,999
2.		8	99,9999	10^3	99,999	10^3	99,999
3.		10^2	99,9999	10^3	99,999	10^3	99,999
1.	30сек	5	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,999
2.		7	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,999
3.		15	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,999
1.	45сек	10	99,9999	7	99,9999	10^2	99,9999
2.		20	99,9999	10	99,9999	10^2	99,9999
3.		12	99,9999	8	99,9999	10^2	99,9999
Контроль		$1x10^8$		$1x10^8$		$1x10^8$	

Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15 сек			
30 сек			

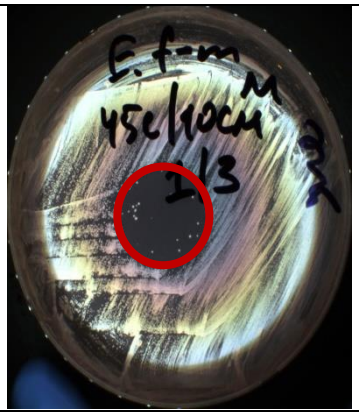
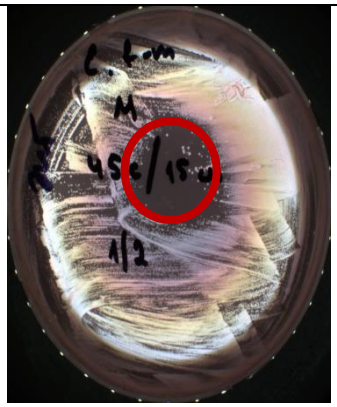
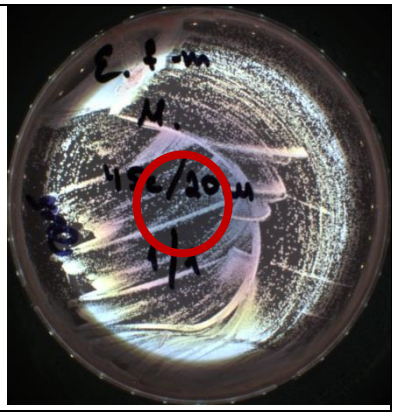
45 сек			

Рис. 5.2. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcus faecium 9/63.

Угнетение бактериального роста при воздействии НТАП получена 99,9995 % эффективность в отношении Enterococcus faecium 9/63 в режиме 20 см (15 сек).

Таблица 5.3

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae ATCC 700603

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %
1.	15сек	10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^3	99,9999
2.		10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^3	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^3	99,9999
1.	30сек	4	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,9999
2.		8	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,9999
3.		6	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,9999
1.	45сек	15	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9997
2.		27	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9997
3.		14	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9997
Контроль		$3x10^9$		$3x10^9$		$3x10^9$	

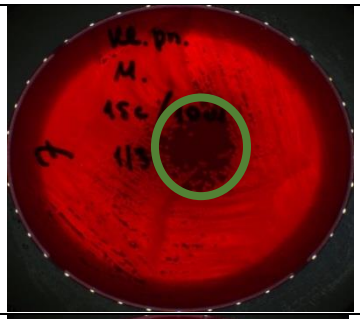
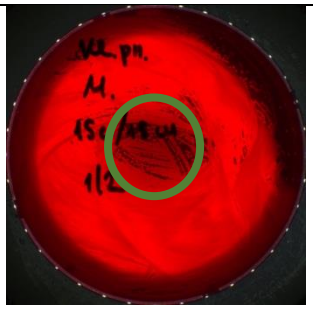
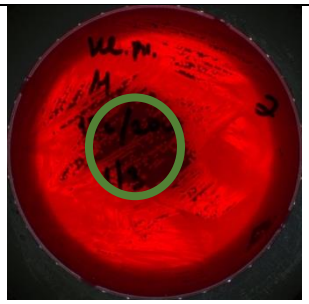
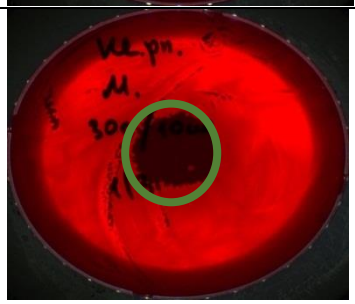
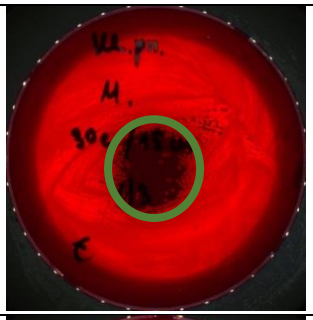
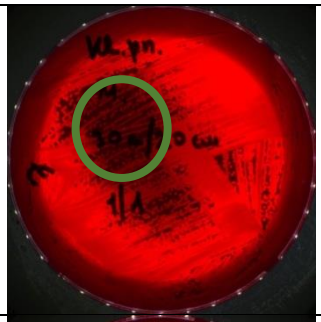
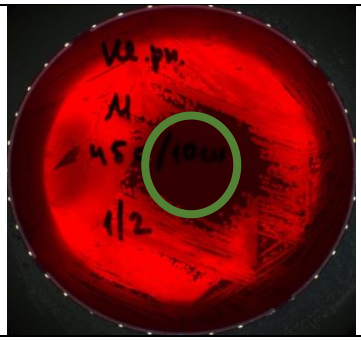
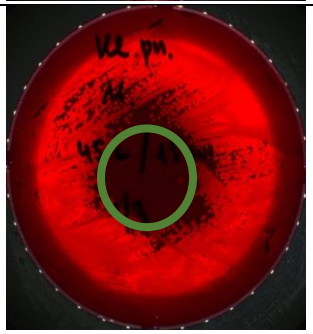
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15сек			
30сек			
45сек			

Рис. 5.3. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae ATCC 700603.

Экспериментально подтверждено, что воздействие НТАП демонстрирует исключительно высокую бактерицидную активность в отношении Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae ATCC 700603, обеспечивая эффективность подавления роста на уровне 99,9999%. Столь значительный антимикробный эффект достигается при различных параметрах обработки: на дистанциях 10, 15 и 20 см с варьирующей продолжительностью экспозиции от 15 до 45 секунд.

Таблица 5.4

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Escherichia coli ATCC 10536

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность ,%	КОЕ	эффективность ,%	КОЕ	эффективность ,%
1	15сек	15	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,999
2		20	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,999
3		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,999
1	30сек	2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,999
2		0	99,9999	6	99,9999	10^2	99,9999
3		6	99,9999	13	99,9999	10^3	99,9999
1	45сек	5	99,9999	15	99,9999	10^3	99,9999
2		4	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,9999
3		2	99,9999	7	99,9999	10^3	99,9999
Контроль		$1,3x10^9$		$1,3x10^9$		$1,3x10^9$	

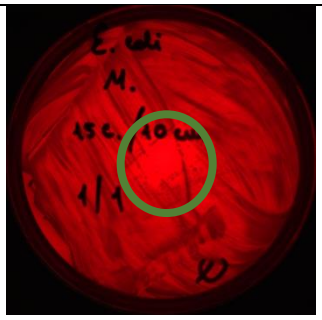
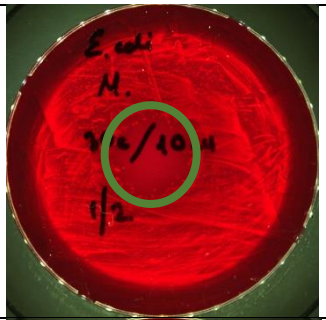
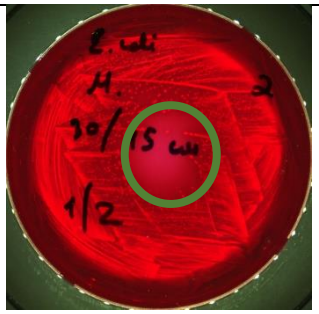
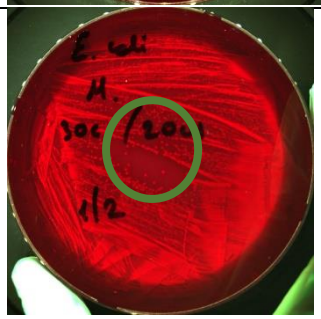
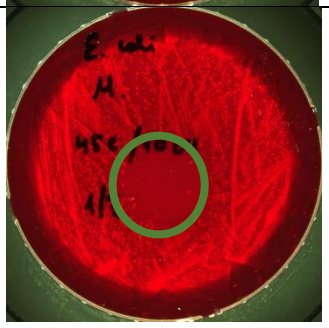
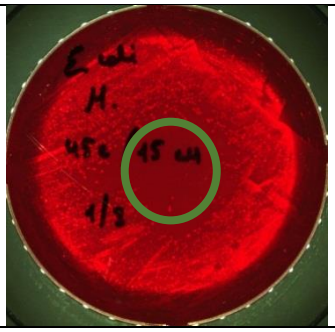
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15сек			
30сек			
45сек			

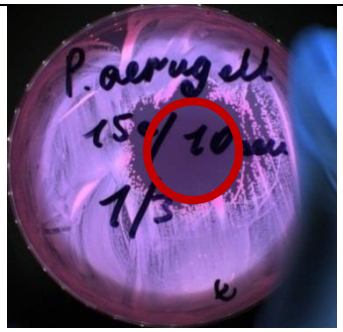
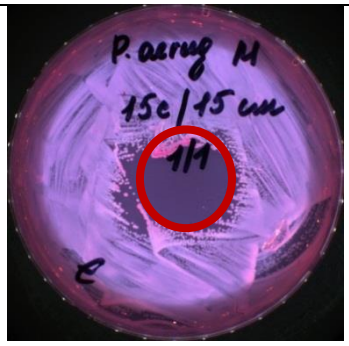
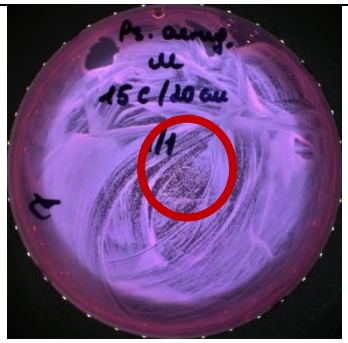
Рис. 5.4. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость E.coli ATCC 10536.

Проведенные исследования продемонстрировали высокую эффективность НТАП-воздействия на референс-штамм Escherichia coli ATCC 10536, обеспечивая 99,9999% подавление бактериального роста. Высокий бактерицидный эффект достигался в широком диапазоне параметров обработки, включая дистанции 10, 15 и 20 см при варьировании времени экспозиции от 15 до 45 секунд.

Таблица 5.5

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Pseudomonas aeruginosa ATCC 10146

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %
1.	15 сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
1.	30 сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
1.	45 сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
Контроль		$7x10^8$		$7x10^8$		$7x10^8$	

Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15сек			

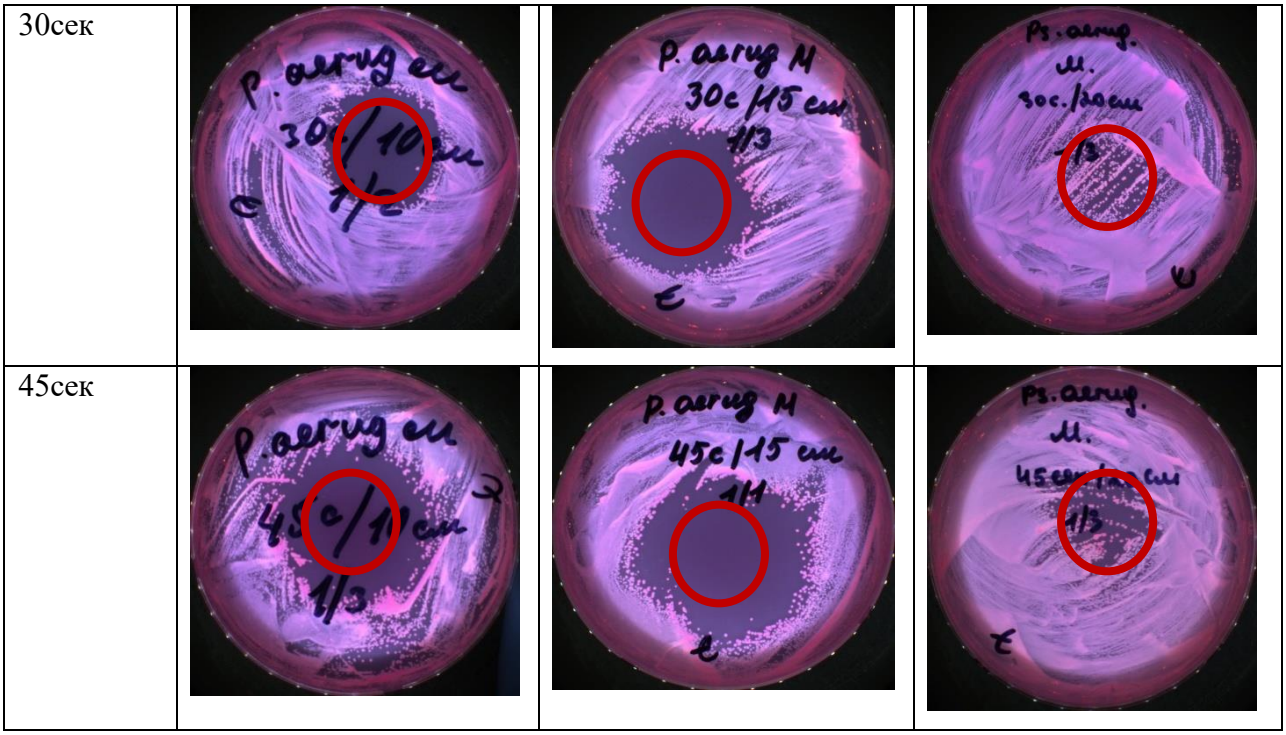


Рис. 5.5. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Pseudomonas aeruginosa ATCC 10146.

Экспериментальные данные подтверждают выраженное бактериостатическое действие НТАП в отношении Pseudomonas aeruginosa ATCC 10145. Во всех tested режимах обработки (10, 15 и 20 см с экспозицией 15-45 сек) достигнут максимальный уровень подавления роста культуры, соответствующий стандарту 99,9999% эффективности.

Таблица 5.6

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Candida albicans 24433 ATCC

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%
1.	30 сек	10^2	99,9995	10^3	99,995	10^4	99,95
2.		10^2	99,9995	10^3	99,995	10^4	99,95
3.		10^2	99,9995	10^3	99,995	10^3	99,995
1.	45 сек	10^2	99,9995	10^3	99,995	10^4	99,95
2.		10^2	99,9995	10^3	99,995	10^3	99,995
3.		10^2	99,9995	10^3	99,995	10^3	99,995
1.	60 сек	10^2	99,9995	10^3	99,995	10^3	99,995
2.		10^2	99,9995	10^3	99,995	10^3	99,995
3.		10^2	99,9995	10^3	99,995	10^3	99,995
Контроль		$2x10^7$		$2x10^7$		$2x10^7$	

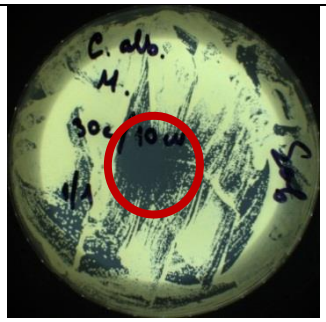
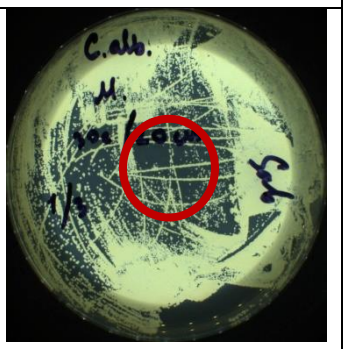
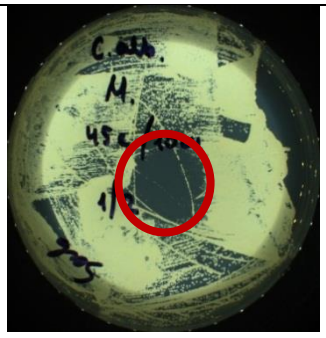
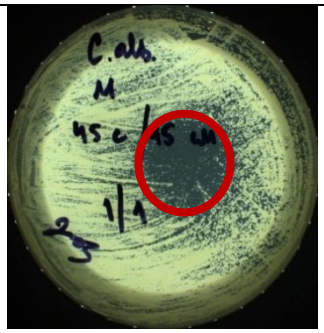
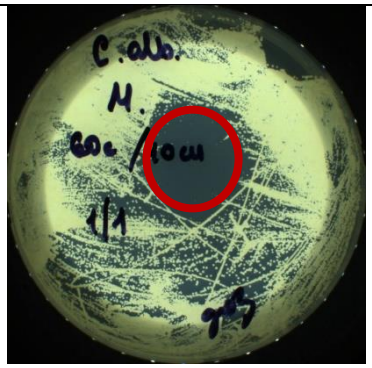
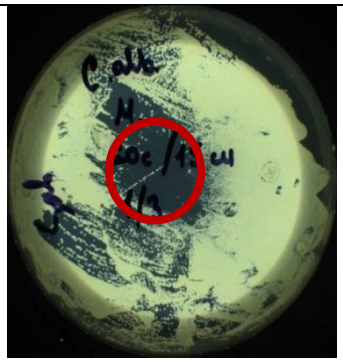
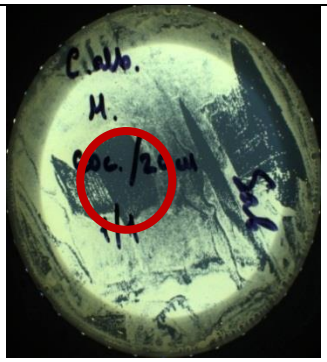
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
30 сек			
45 сек			
60 сек			

Рис. 5.6. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Candida albicans 24433 ATCC.

Проведенные исследования выявили высокую противогрибковую активность НТАП в отношении Candida albicans ATCC 24433. На расстоянии 15 см при экспозиции 30, 45 и 60 секунд, а также на дистанции 20 см при 60-секундном воздействии достигнута эффективность -99,995%.

Таблица 5.7

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Staphylococcus aureus 906

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность, %
1.	15 сек	10^3	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
2.		10^3	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
3.		10^3	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
1.	30 сек	10^3	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
2.		10^3	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
3.		10^3	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
1.	45 сек	10^2	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
2.		10^2	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^4	99,999	10^3	99,9999
Контроль		$1x10^9$		$1x10^9$		$1x10^9$	

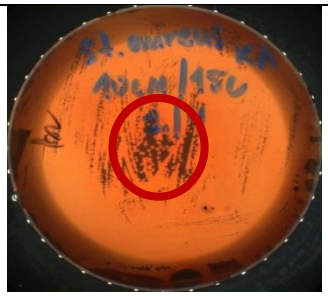
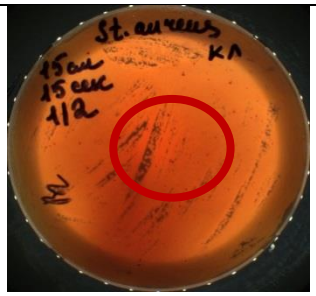
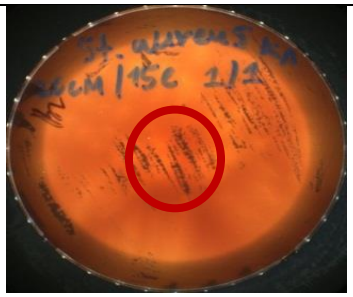
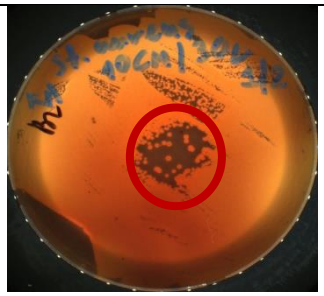
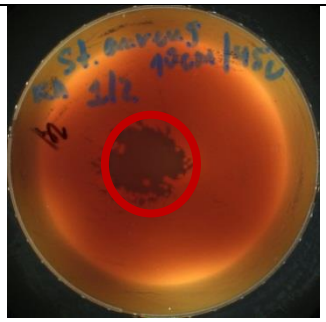
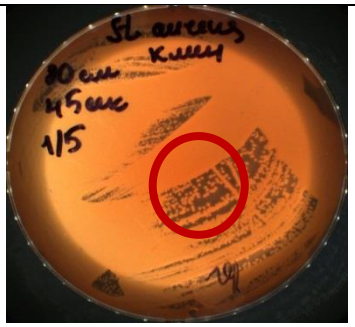
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15 сек			
30 сек			
45 сек			

Рис. 5.7. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Staphylococcus aureus

Эксперимент подтвердил высокую эффективность НТАП-воздействия на культуру Staphylococcus aureus 906, обеспечивающую 99,9999% подавление бактериального роста. Максимальный бактерицидный эффект достигался при различных комбинациях параметров обработки: на дистанциях от 10 до 20 см с продолжительностью воздействия от 15 до 60 секунд, что свидетельствует о стабильной антимикробной активности метода в широком диапазоне экспериментальных условий.

Полученные данные в ходе эксперимента подчеркивают перспективность применения НТАП для эффективного контроля наиболее клинически значимых библиотечных штаммов, демонстрируя воспроизводимый результат независимо от вариаций расстояния и времени экспозиции.

5.2.2. Исследования, проведенные с применением штаммов микроорганизмов, выделенных из ран

На втором этапе исследования была проведена комплексная оценка эффективности НТАП-воздействия на клинически значимые штаммы микроорганизмов, выделенные из раневых поверхностей пациентов. В фокусе исследования находились представители группы ESKAPE-патогенов, включая Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii и Escherichia coli, а также грамположительные микроорганизмы - MRSA, Enterococcus faecalis, E. faecium и дрожжеподобный гриб Candida albicans. Все исследуемые штаммы характеризовались множественной лекарственной устойчивостью, подтвержденной в соответствии с критериями EUCAST.

Для каждого штамма было разработано три варианта экспериментальных условий, варьирующих по двум ключевым параметрам: расстоянию до источника воздействия и продолжительности экспозиции НТАП. Такой дизайн исследования позволил получить репрезентативные данные об антимикробной эффективности метода в отношении полирезистентных клинических изолятов.

Для проведения эксперимента были использованы суточные бактериальные культуры из рабочей коллекции ФГБУ «ЦСП» ФМБА России. Все штаммы прошли обязательную верификацию, включающую подтверждение биохимических характеристик в соответствии с установленными микробиологическими стандартами.

Отобранные для исследования культуры поддерживали в стандартных условиях культивирования, что обеспечивало стабильность их физиологических и метаболических свойств на протяжении всего эксперимента. Использование сертифицированных коллекционных штаммов с документально подтверждёнными характеристиками гарантировало воспроизводимость получаемых результатов и достоверность экспериментальных данных.

Суточные культуры, были выращены на плотных питательных средах:

- E. coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa на среде Эндо;
- S. aureus на желточно-солевом агаре;
- E. faecalis, E. faecium на энтерококк агаре;
- C. albicans на среде Сабуро.

Таблица 5.8

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcus faecalis, выделенного из раневой поверхности пациента

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%
1.	15 сек	0	100	10^3	99,9998	10^3	99,9998
2.		3	99,9999	10^3	99,9998	10^3	99,9998
3.		4	99,9999	10^3	99,9998	10^3	99,9998
4.		6	99,9999	10^3	99,9998	10^3	99,9998
5.		15	99,9999	10^3	99,9998	10^3	99,9998
1.	30 сек	4	99,9999	7	99,9999	10^2	99,9999
2.		0	99,9999	5	99,9999	10^2	99,9999
3.		0	99,9999	2	99,9999	10^2	99,9999
4.		6	99,9999	8	99,9999	10^2	99,9999
5.		15	99,9999	6	99,9999	10^3	99,9998
1.	45сек	30	99,9999	4	99,9999	48	99,9999
2.		4	99,9999	4	99,9999	21	99,9999

		Продолжение Таблицы 5.8					
3.		4	99,9999	5	99,9999	43	99,9999
4.		15	99,9999	20	99,9999	34	99,9999
5.		10	99,9999	0	99,9999	10^2	99,9999
Контроль		$5x10^8$		$5x10^8$		$5x10^8$	

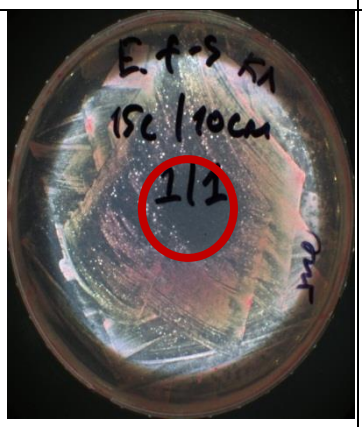
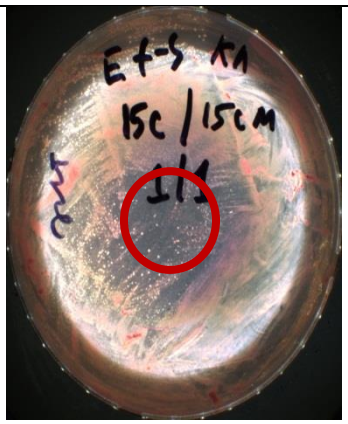
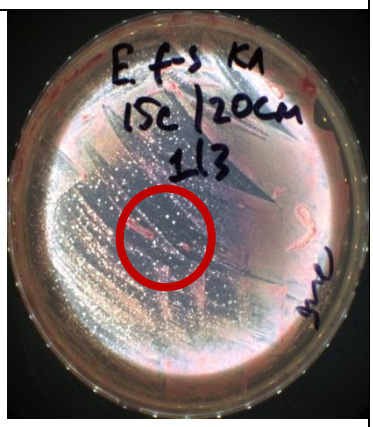
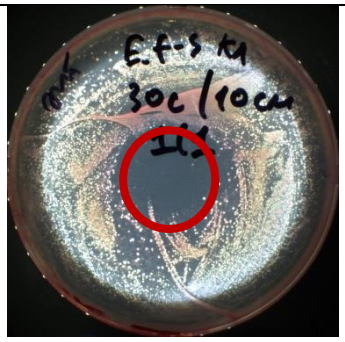
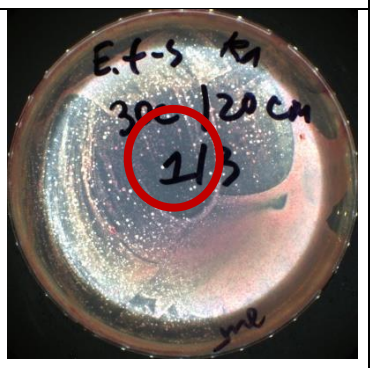
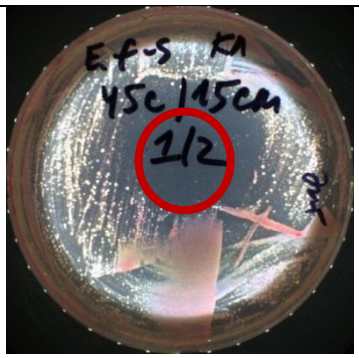
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см		
15сек			
30сек			
45сек			

Рис. 5.8. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcus faecalis, выделенного из раневой поверхности пациента

Экспериментальные данные подтвердили выраженную бактерицидную активность НТАП в отношении полирезистентнго клинического изолята Enterococcus faecalis. При различных комбинациях расстояний (10-20 см) и

времени экспозиции (15-45 секунд) было достигнуто подавление роста на уровне 99,9999%. В отдельных сериях опытов зафиксирована сопоставимая эффективность 99,9998% при сокращении времени воздействия до 15 секунд на увеличенных дистанциях.

Полученные результаты свидетельствуют о стабильном антимикробном действии НТАП, проявляющемся в широком диапазоне экспериментальных условий. Особенно значимо сохранение высокой эффективности при минимальном времени обработки и на увеличенных расстояниях, что подтверждает перспективность применения данной технологии.

Таблица 5.9

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcus faecium, выделенного из раневой поверхности пациента

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%
1.	15 сек	10	99,9999	10^3	99,999	10^4	99,99
2.		10^2	99,9999	10^3	99,999	10^4	99,99
3.		10^2	99,9999	10^3	99,999	10^4	99,99
4.		4	99,9999	10^3	99,999	10^4	99,99
5.		0	99,9999	10^3	99,999	10^4	99,99
1.	30 сек	12	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
4.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
5.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
1.	45 сек	38	99,9999	10^3	99,999	10^2	99,9999
2.		25	99,9999	10^3	99,999	27	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	20	99,9999
4.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
5.		30	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
Контроль		$1x10^8$		$1x10^8$		$1x10^8$	

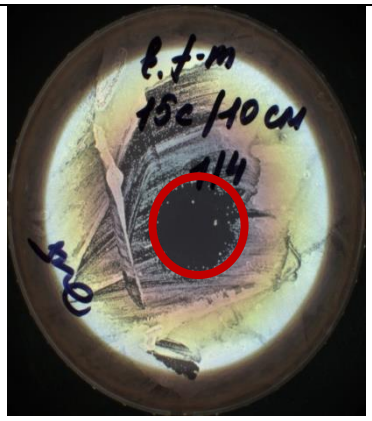
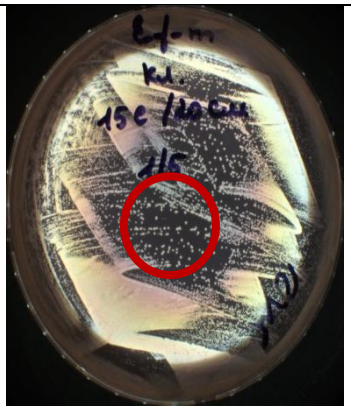
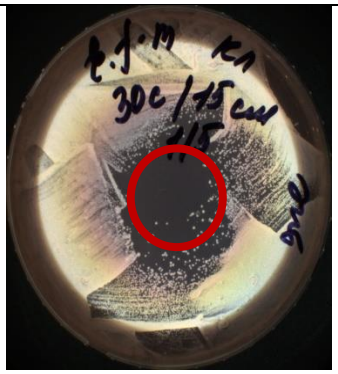
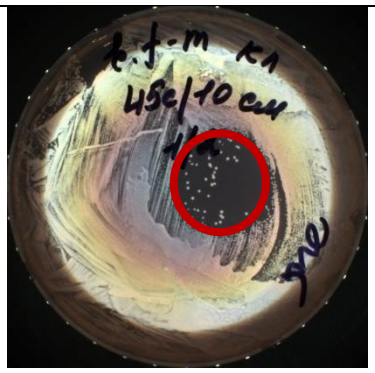
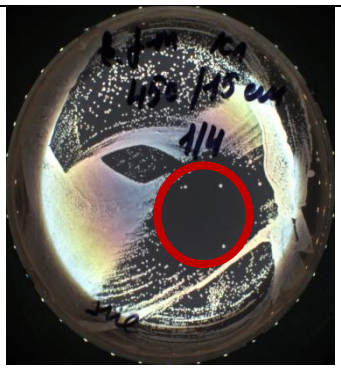
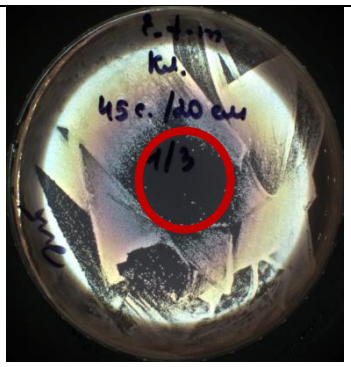
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15 сек			
30 сек			
45 сек			

Рис. 5.9. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Enterococcus faecium, выделенного из раневой поверхности пациента

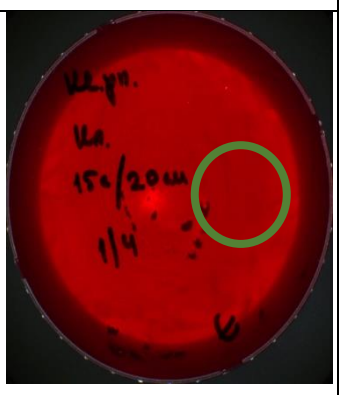
Экспериментально подтверждена выраженная бактерицидная активность НТАП против клинических изолятов Enterococcus faecium с множественной лекарственной устойчивостью. При различных параметрах обработки (10-20 см, 15-45 с) достигнуто подавление роста на уровне 99,999%. В частности, сокращение времени экспозиции до 15-30 секунд на расстоянии 20 см обеспечило эффективность 99,99%.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения НТАП для борьбы с полирезистентными штаммами микроорганизмов.

Таблица 5.10

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Klebsiella pneumoniae, выделенного из раневой поверхности пациента

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность, %
1.	15сек	0	100	10^2	99,9999	10^4	99,998
2.		6	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,998
3.		4	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,998
4.		2	99,9999	10^3	99,9998	10^4	99,998
5.		2	99,9999	10^3	99,9998	10^4	99,998
1.	30сек	4	99,9999	15	99,9999	10^3	99,9998
2.		12	99,9999	32	99,9999	10^3	99,9998
3.		0	100	47	99,9999	10^2	99,9999
4.		3	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,9998
5.		5	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,9998
1.	45сек	6	99,9999	32	99,9999	10^3	99,9998
2.		1	99,9999	27	99,9999	10^3	99,9998
3.		5	99,9999	22	99,9999	10^3	99,9998
4.		0	100	47	99,9999	10^3	99,9998
5.		0	100	8	99,9999	10^2	99,9999
Контроль		$4x10^8$		$4x10^8$		$4x10^8$	

Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15сек			

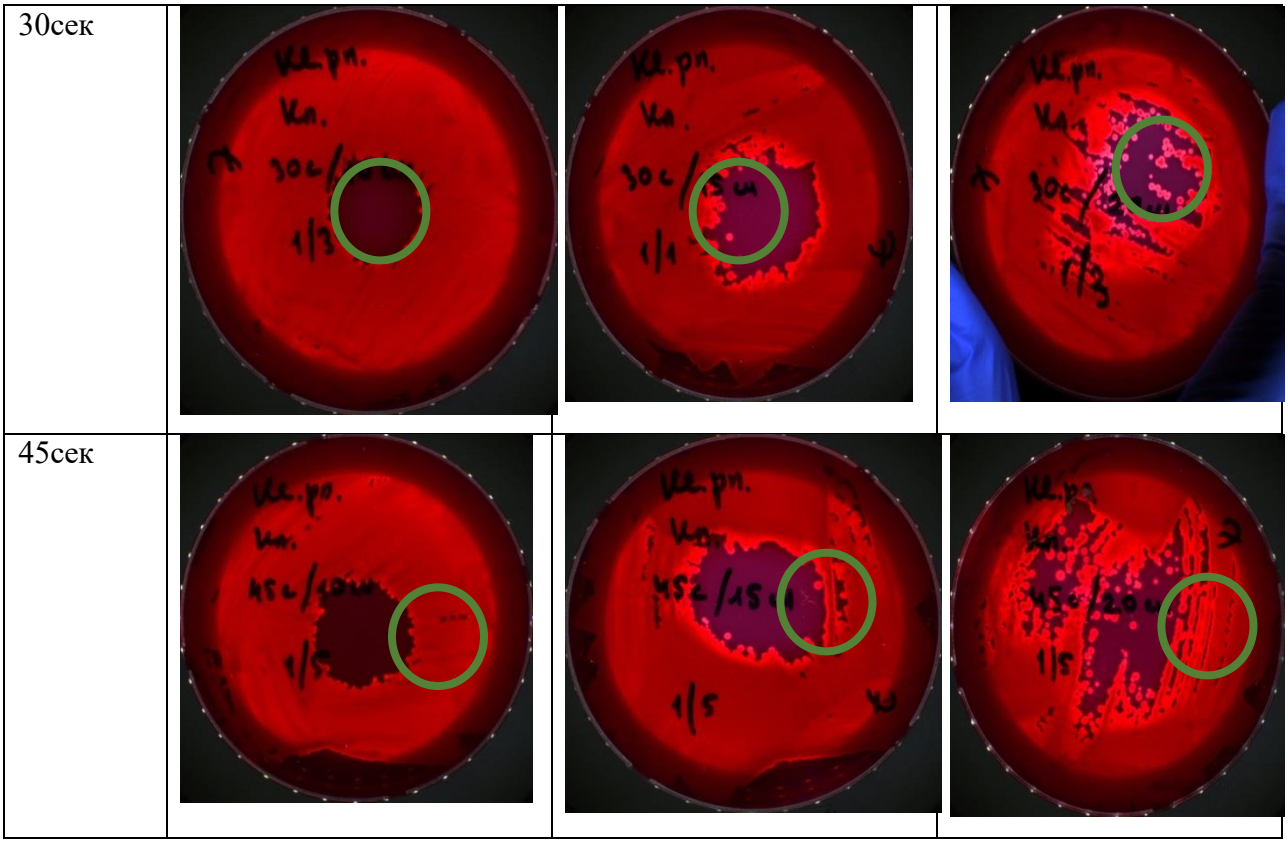


Рис. 5.10. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость K.pneumoniae, выделенного из раневой поверхности пациента

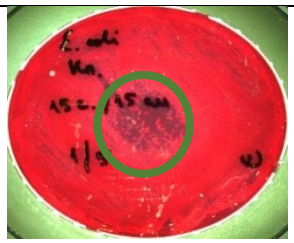
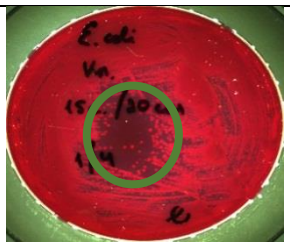
Проведенные исследования выявили исключительную антимикробную активность НТАП в отношении клинических изолятов Klebsiella pneumoniae с множественной лекарственной устойчивостью. Во всех тестируемых условиях обработки была продемонстрирована стабильно высокая эффективность на уровне 99,9998-99,9999%, подтверждающая мощное бактерицидное действие данной технологии.

Полученные результаты подчеркивают устойчивость антимикробного эффекта при различных параметрах воздействия и свидетельствуют о надежности и перспективности данного метода.

Таблица 5.11

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Escherichia coli, выделенного из раневой поверхности пациента

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%
1.	15сек	20	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
2.		7	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,999
3.		8	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
4.		6	99,9999	10^2	99,9999	25	99,9999
5.		7	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
1.	30сек	25	99,9999	10	99,9999	30	99,9999
2.		10	99,9999	4	99,9999	10^2	99,9999
3.		8	99,9999	5	99,9999	10^2	99,9999
4.		3	99,9999	6	99,9999	10^2	99,9999
5.		1	99,9999	8	99,9999	23	99,9999
1.	45сек	6	99,9999	8	99,9999	15	99,9999
2.		2	99,9999	6	99,9999	10^2	99,9999
3.		1	99,9999	15	99,9999	15	99,9999
4.		5	99,9999	10^2	99,9999	10^3	99,999
5.		15	99,9999	15	99,9999	10^2	99,9999
Контроль		$1x10^8$		$1x10^8$		$1x10^8$	

Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15сек			
30сек			

45сек			

Рис. 5.11. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость E.coli, выделенного из раневой поверхности пациента.

Экспериментально выявлена высокая эффективность НТАП в отношении полирезистентных штаммов Escherichia coli, обеспечивающая подавление бактериального роста на уровне 99,9999% при различных режимах воздействия (10-20 см, 15-45 с). Полученные результаты подтверждают перспективность применения данной технологии для борьбы с устойчивыми внутрибольничными штаммами, демонстрируя стабильный бактерицидный эффект даже при минимальном времени экспозиции. Это открывает возможности для разработки новых методов контроля инфекций, вызванных полирезистными E. coli.

Таблица 5.12

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Pseudomonas aeruginosa, выделенного из раневой поверхности пациента.

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %
1.	15сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
4.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
5.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
1.	30сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
4.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
5.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999
1.	45сек	0	99,9999	35	99,9999	10^2	99,9999
2.		23	99,9999	23	99,9999	10^2	99,9999
3.		28	99,9999	10^2	99,9999	10^2	99,9999

		Продолжение Таблицы 5.12					
4.		3	99,9999	19	99,9999	10^2	99,9999
5.		8	99,9999	12	99,9999	10^2	99,9999
Контроль		$2x10^8$		$2x10^8$		$2x10^8$	

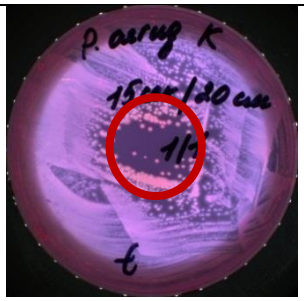
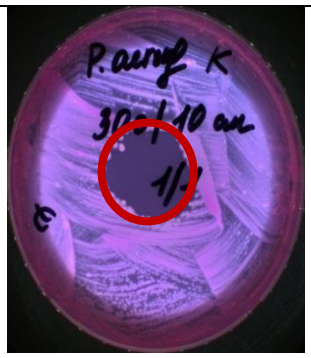
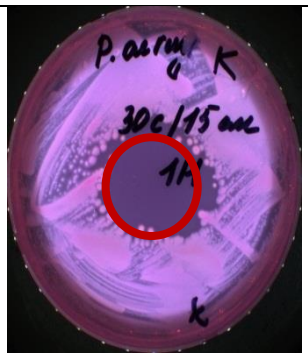
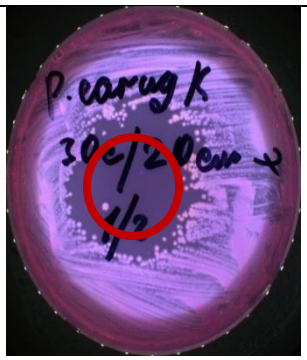
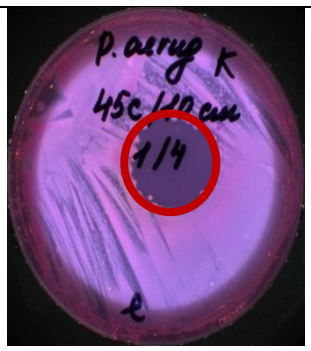
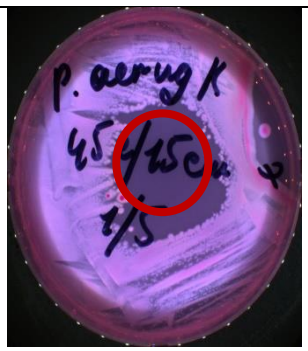
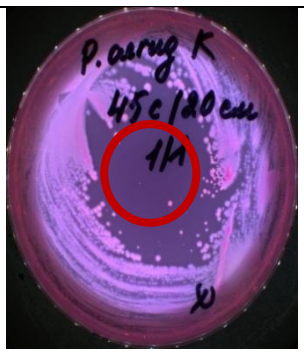
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15сек			
30сек			
45сек			

Рисунок 5.12. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Pseudomonas aeruginosa, выделенного из раневой поверхности пациента.

Экспериментально выявлена высокая бактерицидная активность НТАП в отношении клинических изолятов P. aeruginosa с множественной лекарственной устойчивостью, демонстрирующая 99,9999% подавление роста во всех исследованных режимах обработки.

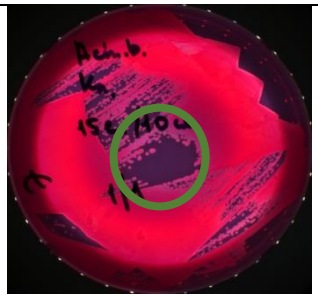
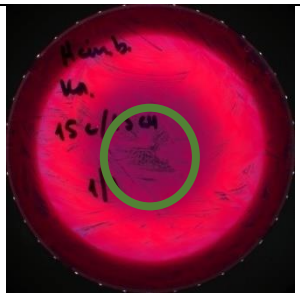
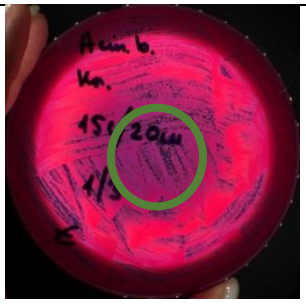
Уникальный механизм действия аргоновой плазмы, сочетающий одновременное воздействие активных форм кислорода, азота, УФ-излучения

и других биоцидных факторов, обеспечивает комплексное повреждение клеточных структур бактерий. Это объясняет стабильно высокую эффективность технологии независимо от конкретных параметров воздействия.

Таблица 5.13

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Acinetobacter baumannii, выделенного из раневой поверхности пациента

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %
1.	15 сек	10^2	99,9999	10^3	99,999	10^4	99,99
2.		10^2	99,9999	10^4	99,99	10^4	99,99
3.		10^2	99,9999	10^4	99,99	10^4	99,99
4.		10^2	99,9999	10^4	99,99	10^4	99,99
5.		5	99,9999	10^4	99,99	10^4	99,99
1.	30 сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
4.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
5.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
1.	45 сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
4.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
5.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,99
Контроль		$1x10^8$		$1x10^8$		$1x10^8$	

Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15 сек			

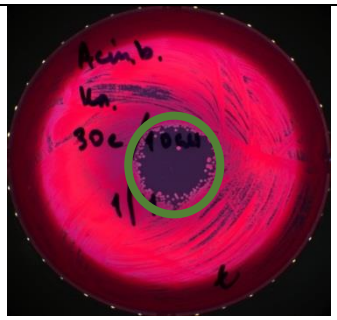
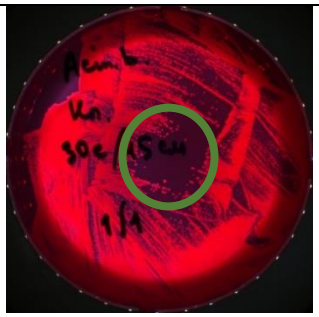
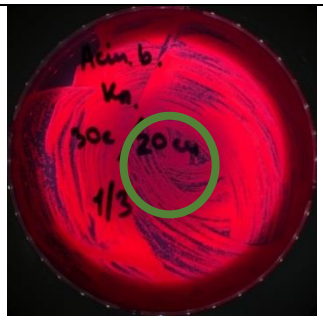
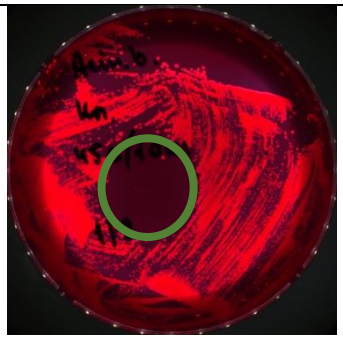
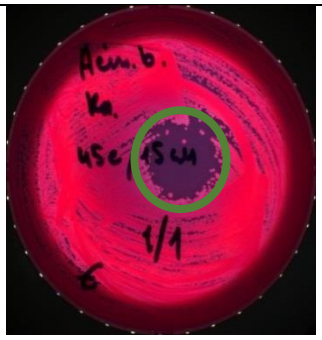
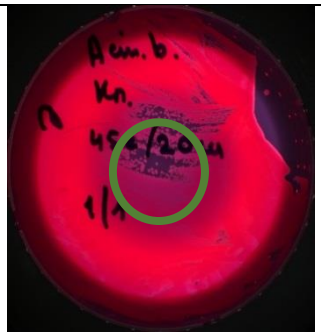
30 сек			
45 сек			

Рис. 5.13. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Acinetobacter baumannii, выделенного из раневой поверхности пациента

Воздействие НТАП продемонстрировало высокую бактерицидную активность в отношении клинических изолятов Acinetobacter baumannii с множественной лекарственной устойчивостью. На расстояниях 10 и 15 см достигнуто подавление роста на уровне 99,9999%, тогда как при обработке с дистанции 20 см эффективность составила 99,99%.

Стабильность антимикробного эффекта подтверждена при различных временных параметрах экспозиции.

Таблица 5.14

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Candida albicans, выделенного из раневой поверхности пациента

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%
1.	30 сек	0	100	10^2	99,999	10^3	99,99
2.		0	100	10^2	99,999	10^3	99,99
3.		0	100	10^3	99,99	10^3	99,99
4.		0	100	10^3	99,99	10^4	99,90
5.		0	100	10^3	99,99	10^3	99,99

Продолжение Таблицы 5.14							
1.	45 сек	2	99,9999	10^2	99,999	10^2	99,999
2.		3	99,9999	10^2	99,999	10^2	99,999
3.		0	100	10^2	99,999	10^3	99,99
4.		0	100	10^2	99,999	10^3	99,99
5.		10^2	99,999	10^2	99,999	10^3	99,99
1.	60 сек	5	99,9999	10^2	99,999	10^3	99,99
2.		2	99,9999	10^2	99,999	10^3	99,99
3.		0	100	10^2	99,999	10^3	99,99
4.		2	99,9999	10^2	99,999	10^3	99,99
5.		6	99,9999	10^2	99,999	10^4	99,90
Контроль		$1x10^7$		$1x10^7$		$1x10^7$	

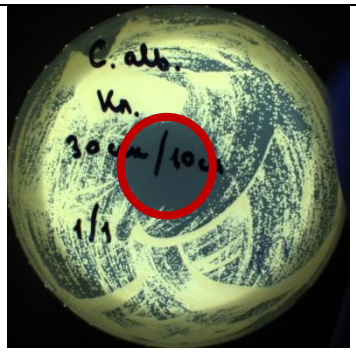
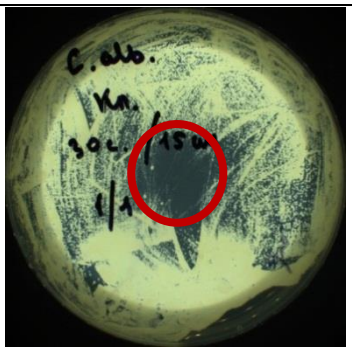
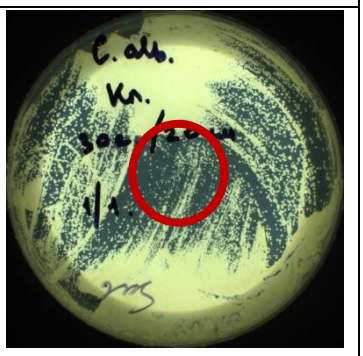
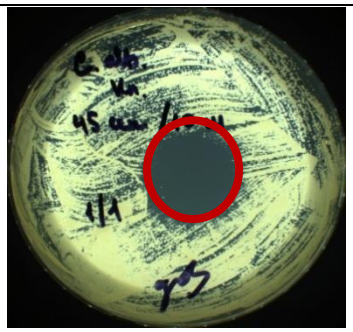
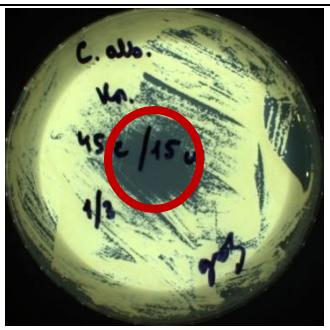
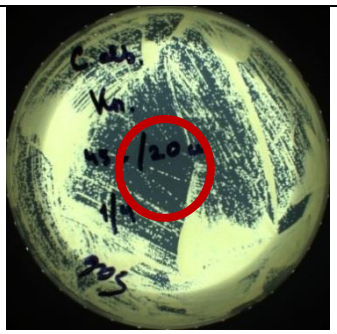
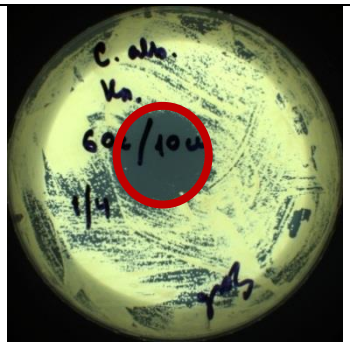
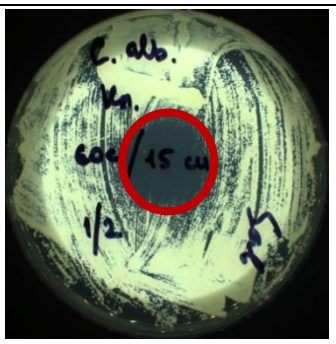
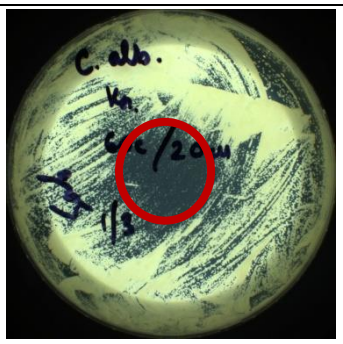
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
30 сек			
45 сек			
60 сек			

Рис. 5.14. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Candida albicans, выделенного из раневой поверхности пациента.

Экспериментально подтверждена эффективность НТАП в отношении Candida albicans, демонстрирующая подавление роста на уровне 99,999% при обработке на расстоянии 15 см и 99,99% – при 20 см. Наибольшая фунгицидная активность достигалась при увеличении времени экспозиции до 45-60 секунд, сохраняя при этом стабильный эффект при различных режимах воздействия.

Полученные данные свидетельствуют о выраженном дозозависимом действии НТАП, обеспечивающем надежное подавление грибкового роста даже при минимальных временных параметрах обработки. Это открывает перспективы применения технологии для контроля грибковых инфекций.

Таблица 5.15

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Staphylococcus aureus, выделенного из раневой поверхности пациента

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность, %
1.	15 сек	10^3	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
2.		10^3	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
3.		10^3	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
4.		10^3	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
5.		10^3	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
1.	30 сек	10^2	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
2.		10^2	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
3.		10^2	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
4.		10^3	99,9998	10^4	99,9983	10^4	99,9983
5.		10^2	99,9999	10^4	99,9983	10^4	99,9983
1.	45 сек	10^2	99,9999	10^4	99,9983	-	
2.		10^2	99,9999	10^4	99,9983	-	
3.		10^2	99,9999	10^4	99,9983	-	
4.		10^2	99,9999	10^4	99,9983	-	
5.		10^2	99,9999	10^4	99,9983	-	
Контроль		$6x10^8$		$6x10^8$		$6x10^8$	

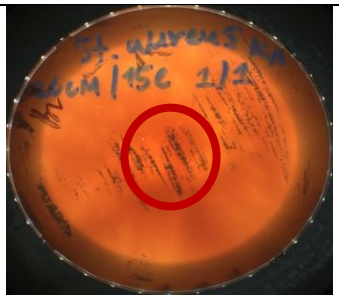
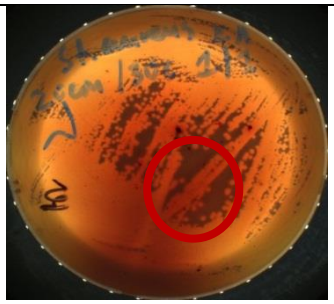
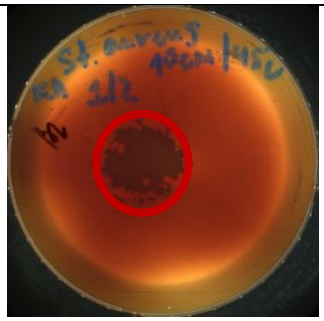
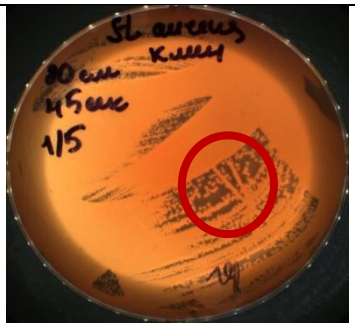
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
15 сек			
30 сек			
45 сек			

Рис. 5.15. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость Staphylococcus aureus, выделенного из раневой поверхности пациента.

Экспериментально установлена исключительная эффективность НТАП в отношении клинических штаммов Staphylococcus aureus с множественной лекарственной устойчивостью (MRSA). При обработке на расстоянии 10 см достигнуто максимальное подавление роста (99,9999%) при различных временных параметрах экспозиции (15-45 сек).

На увеличенных дистанциях (15-20 см) сохраняется высокая бактерицидная активность (99,9983%), демонстрирующая лишь незначительное снижение эффективности. Особого внимания заслуживает стабильность антимикробного действия при сокращении времени воздействия до 15 секунд.

5.2.3. Исследования, проведенные со смесью эталонных музейных культур и штаммов микроорганизмов, выделенных из поверхностных ран

На третьем этапе проведено сравнительное изучение эффективности НТАП-воздействия на микробные ассоциации в трех различных режимах обработки (с вариацией расстояния и времени экспозиции):

1. Исследование клинических микст-культур:

- Полимикробные комбинации клинических изолятов ESKAPE-патогенов с верифицированной полирезистентностью (в соответствии с EUCAST), выделенных из раневых поверхностей (K. pneumoniae + P. aeruginosa + A. baumannii, E. coli + MRSA, E. faecalis + E. faecium и другие комбинации)
- Все штаммы с подтвержденной множественной лекарственной устойчивостью (EUCAST)

2. Исследование эталонных ассоциаций:

- Контрольные смеси музейных штаммов из коллекции ФГБУ «ЦСП» (E. coli ATCC 10536 + K. pneumoniae ATCC 700603 + S. aureus 906 и др.)
- Стандартизированные комбинации грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов

Для каждой комбинации параметров воздействия проведено три параллельных эксперимента, что позволило:

- Оценить эффективность против сложных микробных сообществ
- Сравнить активность НТАП в отношении клинических и эталонных ассоциаций
- Выявить особенности инактивации полимикробных биоценозов

Суточные культуры, были выращены на питательном агаре.

Микроорганизмы обрабатывались сразу после посева на чашку Петри. Содержание микроорганизмов в инокуляте10^8-10^9 КОЕ/мл.

Обработке подлежал сектора посева с прилегающими областями, попадающими в пятно освещенности. При обработке использовали режим Б2 на каждую культуру при значениях Фактора Т – 15 сек, 30 сек и 45сек и

Фактора L – 10, 15 и 20 см.

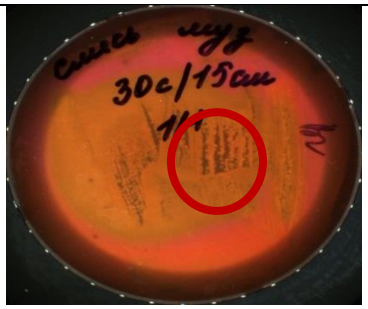
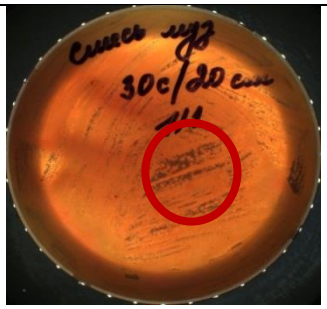
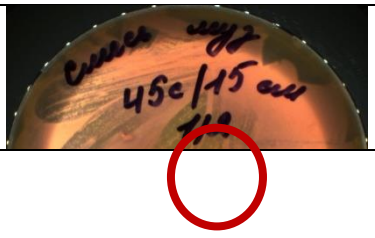
Контрольная группа была составлена также из семи образцов, по одному на каждую культуру. Контрольную группу факторами действия НТАП не обрабатывали.

В таблицах 5.16-5.17 приведены результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость смеси музейных микроорганизмов.

Таблица 5.16

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость смеси музейных микроорганизмов

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность, %	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%
1.	30 сек	10^3	99,9999	10^4	99,999	10^4	99,999
2.		10^3	99,9999	10^4	99,999	10^4	99,999
3.		10^3	99,9999	10^4	99,999	10^4	99,999
1.	45 сек	10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^3	99,999
2.		10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^4	99,999
3.		10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^4	99,999
1.	60 сек	10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^3	99,9999
2.		34	99,9999	10^3	99,9999	10^3	99,9999
3.		10^2	99,9999	10^3	99,9999	10^3	99,9999
Контроль		$1x10^9$		$1x10^9$		$1x10^9$	

Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
30 сек			
45 сек			

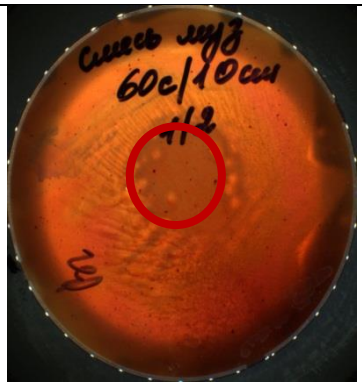
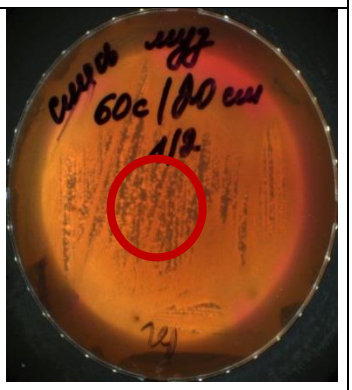
60 сек			

Рис. 5.16. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость смеси музейных микроорганизмов

Экспериментальные исследования продемонстрировали выраженную антимикробную активность НТАП в отношении смешанных культур музейных штаммов. При различных комбинациях расстояний и времени экспозиции достигнуто подавление жизнеспособности микроорганизмов на уровне 99,9999%, что подтверждает высокую эффективность метода. Особое значение имеет выраженное бактерицидное действие в отношении доминирующего в ассоциации штамма Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae ATCC 700603.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения НТАП для контроля сложных микробных сообществ, обеспечивая стабильную эффективность в широком диапазоне параметров обработки.

Таблица 5.17

Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость смеси микроорганизмов, выделенных из раневых поверхностей пациентов

№ п/п	Время обработки	Расстояние, используемое для обработки					
		10 см		15 см		20 см	
		КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%	КОЕ	эффективность,%
1.	30 сек	10^2	99,9999	10^4	99,9975	10^4	99,9975
2.		10^3	99,9998	10^4	99,9975	10^4	99,9975
3.		10^3	99,9998	10^4	99,9975	10^4	99,9975
4.		10^3	99,9998	10^4	99,9975	10^4	99,9975

		Продолжение Таблицы 5.17					
5.		10^3	99,9998	10^4	99,9975	10^4	99,9975
1.	45 сек	10^2	99,9999	10^3	99,9998	10^4	99,9975
2.		10^2	99,9999	10^3	99,9998	10^4	99,9975
3.		10^2	99,9999	10^3	99,9998	10^4	99,9975
4.		10^2	99,9999	10^3	99,9998	10^4	99,9975
5.		10^2	99,9999	10^3	99,9998	10^4	99,9975
1.	60 сек	10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9975
2.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9975
3.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9975
4.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9975
5.		10^2	99,9999	10^2	99,9999	10^4	99,9975
Контроль		$4x10^8$		$4x10^8$		$4x10^8$	

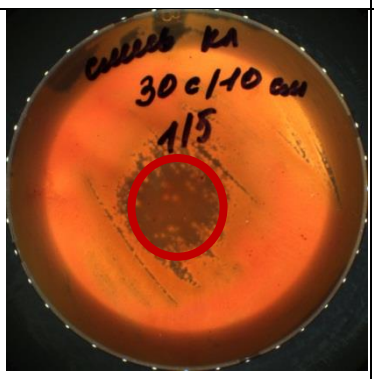
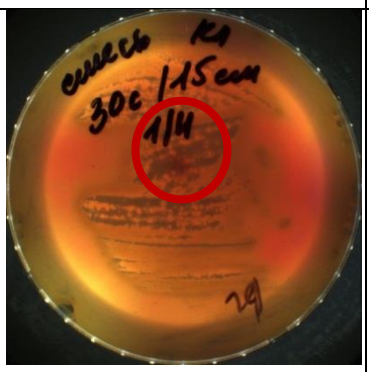
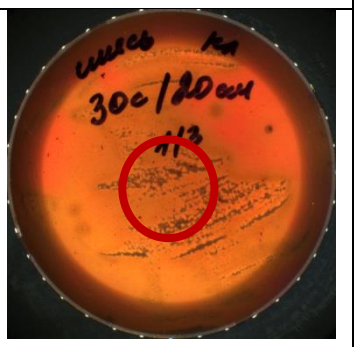
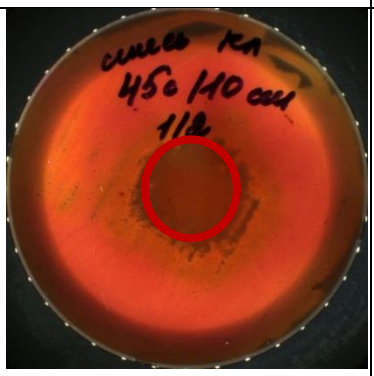
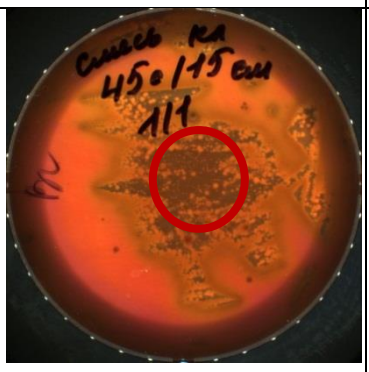
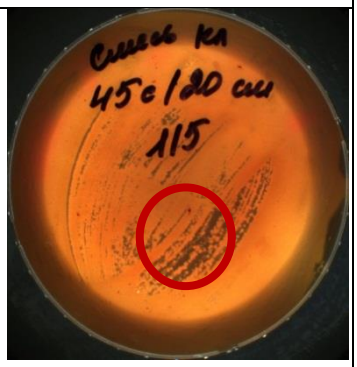
Время обработки	Расстояние, используемое для обработки		
	10 см	15 см	20 см
30 сек			
45 сек			
60 сек			

Рис. 5.17. Результаты оценки влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость смеси микроорганизмов, выделенных из раневых поверхностей пациентов.

Исследования подтвердили высокую эффективность НТАП в отношении полимикробных ассоциаций, выделенных из ран пациентов. Максимальное подавление роста (99,9999%) наблюдалось при стандартных параметрах обработки, в то время как сокращение времени экспозиции или увеличение дистанции приводило к незначительному снижению эффективности до 99,9998-99,9975%.

Особый интерес представляет выраженная чувствительность к НТАП клинически значимых патогенов – K. pneumoniae и A. baumannii, сохранявшаяся при различных режимах воздействия. Полученные данные подчеркивают перспективность применения плазменных технологий для обработки госпитальных раневых инфекций, демонстрируя стабильный антимикробный эффект.

Заключение

Исследования проводились с целью оценки влияния НТАП на выживаемость микроорганизмов и их ассоциаций in vitro в отношении потенциально патогенных микроорганизмов, выделенных от пациентов с раневой поверхности. Оценку проводили с применением подсчета эффективности (%) отмирания бактерий и грибов с поверхностей контрольных и опытных образцов.

Оценку эффективности влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на задержку роста микроорганизмов проводили путем расчета процента снижения (полного отсутствия) роста микроорганизмов в зоне воздействия низкотемпературной аргоновой плазмы по сравнению с контрольным. В качестве контроля использовали чашки с ростом микроорганизмов без воздействия низкотемпературной аргоновой плазмы. В качестве дополнительного контроля титра микроорганизмов использовали способ разведения с посевом на чашке Петри с последующим учетом роста КОЕ на поверхности агаризованных сред.

Критерий антимикробной активности образцов считали через 24-48 ч

снижение не менее чем на 99,99% роста или полное отсутствие роста тест-микроорганизмов.

В результате проведения исследования по оценке влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на выживаемость микроорганизмов и их ассоциаций in vitro в отношении потенциально патогенных микроорганизмов эталонные музейные культуры E. coli ATCC 10536, K. Pneumonias ubsp. pneumoniae ATCC 700603, S. aureus 906, P. aeruginosa ATCC 10145, E. faecalis ATCC 29212, E. faecium 9/63, грибы C. albicans 24433 ATCC и штаммов из группы ESKAPE патогенов Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Escherichia coli, грамположительные бактерии MRSA Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, E. faecium, обладающих множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам по системе EUCAST, дрожжеподобных грибов Candida albicans, выделенных от пациентов с раневой поверхности и из рабочей коллекции ФГБУ «ЦСП» ФМБА России установлено, что эффективность воздействия факторов НТАП, формируемых плазменно-дуговым оборудованием установки «ПЛАЗМОРАН», обеспечивает снижение титра жизнеспособных микроорганизмов с 10^8 - 10^9 до единичных КОЕ, т.е. на 8-9 порядков, как для музейных штаммов, так и для клинических бактериальных штаммов, и составляет от 99,99 до 100%.

Установлено, что дрожжеподобные грибы C. albicans более устойчивы к факторам воздействия НТАП по сравнению с бактериями, и их уничтожение требует большей экспозиции воздействия и меньшего расстояния от сопла плазмотрона до обрабатываемой поверхности, при этом эффективность воздействия составляет для бактерий от 99,99 % до 100%.

В результате проведенной работы получена высокая эффективность применения низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП) в экспериментальных условиях с определением % гибели жизнеспособных бактериальных и грибковых культур. Дальнейшие исследования в этом направлении необходимо провести по оценке безопасности факторов действия НТАП и оценке вклада каждого из них по отдельности для лечения

послеоперационных ран на модели in vivo.

5.3. Оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на пролиферацию фибробластов in vitro

В процессе работы проводились исследования воздействия на культуру фибробластов человека НТАП.

5.3.1. Характеристика культуры диплоидных клеток человека

В работе использовали культуру фибробластов человека (линия М-21, 25 пассаж). В чашки Петри диаметром 3,5 см вносили суспензию, содержащую 30 тыс. клеток в питательной среде ДМЕМ/F12 с добавлением 10% сыворотки эмбрионов коров «Gibco». Клетки помещали в CO_2 инкубатор с содержанием углекислого газа в атмосфере 5 % и температуре 37,0С и культивировали в течение 24 часов для достижения адгезии высеянных клеток. После этого клетки подвергали воздействию низкотемпературной аргоновой плазмы.

5.3.2. Схемы экспериментов

А. Отработка методики обработки низкотемпературной аргоновой плазмы фибробластов человека in vitro.

Плазменно-дуговую хирургическую установку после включения настраивали на режим «Б2». При формировании устойчивого газового потока под соплом установки располагали чашки Петри, содержащие 1 мл среды, таким образом, чтобы условные вертикальные оси объектов совпадали. Визуально оценивали характер перераспределения среды по чашке Петри. В случае формирования на дне зон высыхания засекали время воздействия газового потока. Исследование проводили, располагая объекты на расстоянии 10, 15, 20 или 25 см и воздействуя 30, 45 и 90 секунд.

Б. Оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на пролиферативную активность фибробластов человека in vitro.

Принципиальная схема эксперимента представлена в таблице 5.18.

Таблица 5.18

Схема эксперимента

День 0	Подготовка образцов. В чашки Петри диаметром 3 см вносили суспензию диплоидных клеток человека в среде ДМЕМ/F12. Всего 65 штук Инкубация 24 часа при t=37°C, C_{CO2}=5%
День 1	Подсчёт плотности клеток, адгезировавших на дно чашки Петри.
	Обработка образцов низкотемпературной плазмой 60 чашек Петри с адгезировавшими на дне клетками поочерёдно располагали под струей аппарата: 5 образцов на расстоянии 10 см в течение 15 секунд 5 образцов на расстоянии 10 см в течение 30 секунд 5 образцов на расстоянии 10 см в течение 45 секунд 5 образцов на расстоянии 15 см в течение 15 секунд 5 образцов на расстоянии 15 см в течение 30 секунд 5 образцов на расстоянии 15 см в течение 45 секунд 5 образцов на расстоянии 20 см в течение 15 секунд 5 образцов на расстоянии 20 см в течение 30 секунд 5 образцов на расстоянии 20 см в течение 45 секунд 5 образцов на расстоянии 25 см в течение 15 секунд 5 образцов на расстоянии 25 см в течение 30 секунд 5 образцов на расстоянии 25 см в течение 45 секунд 5 чашек Петри – контрольные образцы Инкубация 72 часа при t=37°C, C_{CO2}=5%
День 4	Анализ результатов №1. Подсчёт плотности клеток на дне в чашках Петри. Пересев клеток 1:2 Инкубация 72 часа при t=37°C, C_{CO2}=5%
День 7	Анализ результатов №2. Подсчёт плотности клеток на дне в чашках Петри.

Объем культуральной среды в экспериментальных чашках Петри непосредственно перед обработкой плазмой составлял 1 мл. После обработки среду удаляли и добавляли новую в объеме 3 мл. Контрольные чашки Петри не обрабатывались. После воздействия плазмы контрольные и экспериментальные чашки Петри культивировали в течение 3 суток в питательной среде ДМЕМ/F12 с добавлением 10% сыворотки эмбрионов коров «Gibco», далее проводили морфофункциональный анализ клеток с использованием витального окрашивания. Через 3 суток проводили пассирование клеток (пересев в другие чашки Петри с разведением 1:2), затем клетки культивировали в течение 3 суток, и проводили повторный морфофункциональный анализ.

Анализ фибробластов

Исследование структурной целостности и пролиферативной активности фибробластов проводили с помощью метода оценки клеточного

компонента биотрансплантатов (Патент РФ № 2484474 от 10.06.2013, авторы Макаров М.С., Конюшко О.И., Сторожева М.В., Боровкова Н.В., Хватов В.Б., Пономарев И.Н.), который основан на окрашивании клеток витальными флуорохромными красителями на основе трипафлавина и родамина С с последующим анализом во флуоресцентном микроскопе (объектив х4, х10, х20, х40). В ходе морфофункционального анализа определяли форму клеток, состояние внутриклеточных мембранных компонентов, наличие вакуолизации, зернистости и других образований цитоплазмы, адгезию клеток на дне чашек Петри. Рассчитывали индекс пролиферации ($ИП_3$), который определяли, как отношение количества клеток в лунке на 3-и сутки культивирования (в тыс/см^2) к количеству клеток на 1-е сутки культивирования. Целостность клеточных мембран (ЦКМ) определяли на основании яркости свечения цитоплазмы витально окрашенных клеток и использовали этот показатель для характеристики структурной целостности клеток. В норме ЦКМ составляет 28-32 балла.

Все работы с культурами клеток проводили в соответствии с международным стандартом GMP.

5.4. Оценка влияния низкотемпературной аргоновой плазмы на пролиферативную активность фибробластов человека in vitro

До воздействия аргоновой плазмы содержание клеток на дне экспериментальных чашек Петри варьировало от 15 до 21 тыс/см^2. При этом во всех чашках клетки имели одинаковое значение ЦКМ, то есть структурная целостность клеток соответствовала норме.

В процессе обработки фибробластов аргоновой плазмой при расположении сопла «Плазморана» на расстоянии 10 и 15 см над чашкой Петри отмечали формирование зон высыхания среды. Такого эффекта не отмечали при удалении сопла прибора от чашки на расстояние 20 см и более. Через 24 часа после воздействия в зонах высыхания отмечали гибель фибробластов (рис. 5.18).

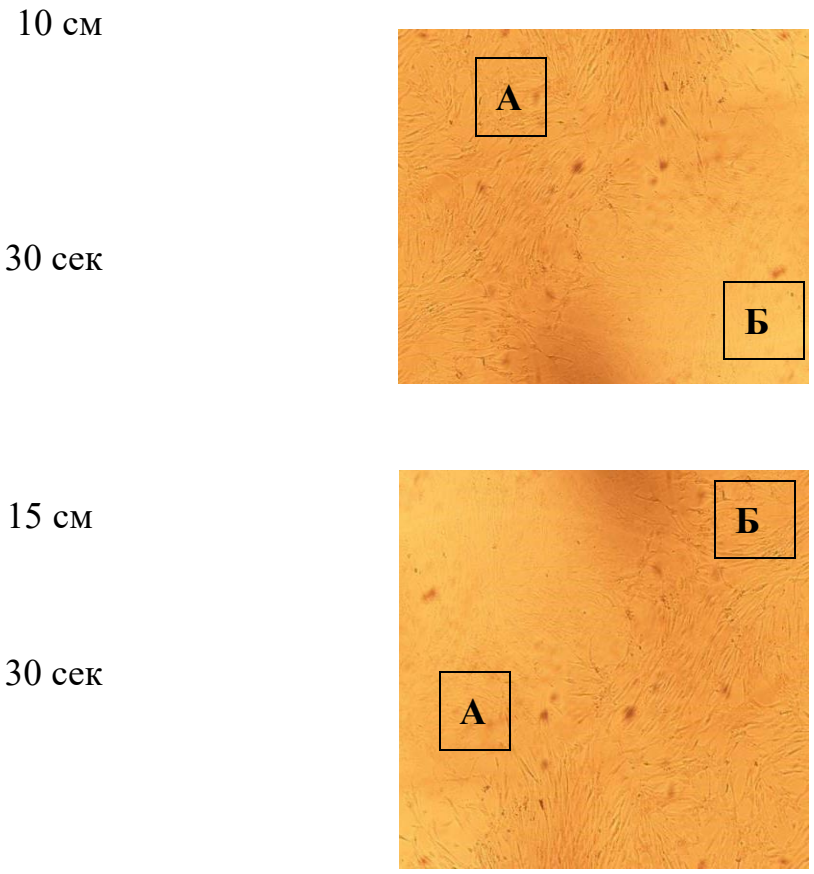


Рис. 5.18. Микроскопическая картина культуры фибробластов через 24 часа после обработки аргоновой плазмой с расстояния 10 и 15 см в течение 30 секунд. А – зона жизнеспособных клеток, Б – зона погибших клеток.

На третьи сутки культивирования в контрольных образцах содержание клеток составило 27 тыс. клеток на $см^2$, что соответствовало увеличению количества фибробластов ($ИП_3$) в 1,35 раза. Значения индекса пролиферации ($ИП_3$) при разных режимах обработки фибробластов представлены в таблице 5.19, микроскопическая картина показана на рисунке 5.19.

Таблица 5.19

Оценка морфофункциональных свойств культуры фибробластов после воздействия низкотемпературной аргоновой плазмы и 3 суток культивирования

Условия обработки аргоновой плазмой		Морфофункциональные параметры				
Расстояние от сопла до поверхности среды	Продол-жительность воздействия	Содержание клеток в культуре, тыс/см^2		ЦКМ, баллы		$ИП_3$
		Через 1 сутки (после воздействия)	Через 3 суток	Через 1 сутки (после воздействия)	Через 3 суток	
контроль		20 [17;22]	27 [27;28]	32 [32;32]	32 [32;32]	1,35
10 см	15 сек	16 [16;16]	3 [3;3]*	32 [32;32]	23 [23;23]*	0,19
	30 сек	17 [16;19]	8 [8;9]*	32 [32;32]	24 [23; 24]*	0,47
	45 сек	18 [17;18]	11 [10;12]*	32 [32;32]	24 [23;24]*	0,61
15 см	15 сек	16 [16;17]	20 [18;20]*	32 [32;32]	24[23;24]*	1,25
	30 сек	18[15;18]	15 [14;17]*	32 [32;32]	24 [24;25]*	0,83
	45 сек	15 [15;17]	16[15;20]*	32 [32;32]	24 [24;24]*	1,07
20 см	15 сек	17 [15;20]	21 [21;29]*	32 [32;32]	26 [26;26]*	1,23
	30 сек	19 [17;21]	16[15;20]*	32 [32;32]	26 [25;26]*	0,84
	45 сек	17 [16;19]	15 [14;15]*	32 [32;32]	26 [25;27]*	0,88
25 см	15 сек	16[16;17]	28 [27;30]	32 [32;32]	28[28;28]*	1,75
	30 сек	19 [18;20]	21 [21;23]*	32 [32;32]	25 [25;26]*	1,10
	45 сек	17[15;18]	16 [15;17]*	32 [32;32]	26 [26;27]*	0,94

Отметим, что обработка аргоновой плазмой в 6 сериях из 12 приводила к снижению числа фибробластов по сравнению с исходными значениями, наиболее выраженному в опытах при расположении сопла «Плазморана» на 10 см от чашки Петри. Резкое снижение числа фибробластов могло быть обусловлено гибелью клеток при высыхании среды во время обработки, ингибированием пролиферативной активности клеток, а также нарушением их адгезии. После воздействия аргоновой плазмой на расстоянии 10 см в опытных чашках Петри отмечено большое количество клеток в суспензии, т.е. эти клетки полностью теряли связь с субстратом и не могли

пролиферировать. Особенно интересным было выраженное (более чем в 5 раз) снижение количества фибробластов на третьи сутки культивирования при обработке аргоновой плазмой с расстояния 10 см и 15 сек. Тогда как более длительное воздействие плазмы в течение 30 и 45 сек приводило к снижению количества фибробластов только в 1,5- 2 раза. При удалении сопла на 20 и 25 см от чашек наблюдали отсутствие стимуляции пролиферации фибробластов при длительных сроках экспозиции (30-45 секунд). Пролиферативный эффект, близкий к контролю, отмечен при режимах воздействия 15 и 20 см в течение 15 секунд, $ИП_3$ 1,25 и 1,23, соответственно. При режиме обработки 25 см в течение 15 секунд отмечали стимуляцию пролиферации фибробластов по сравнению с контролем ($ИП_3$ – 1,75).

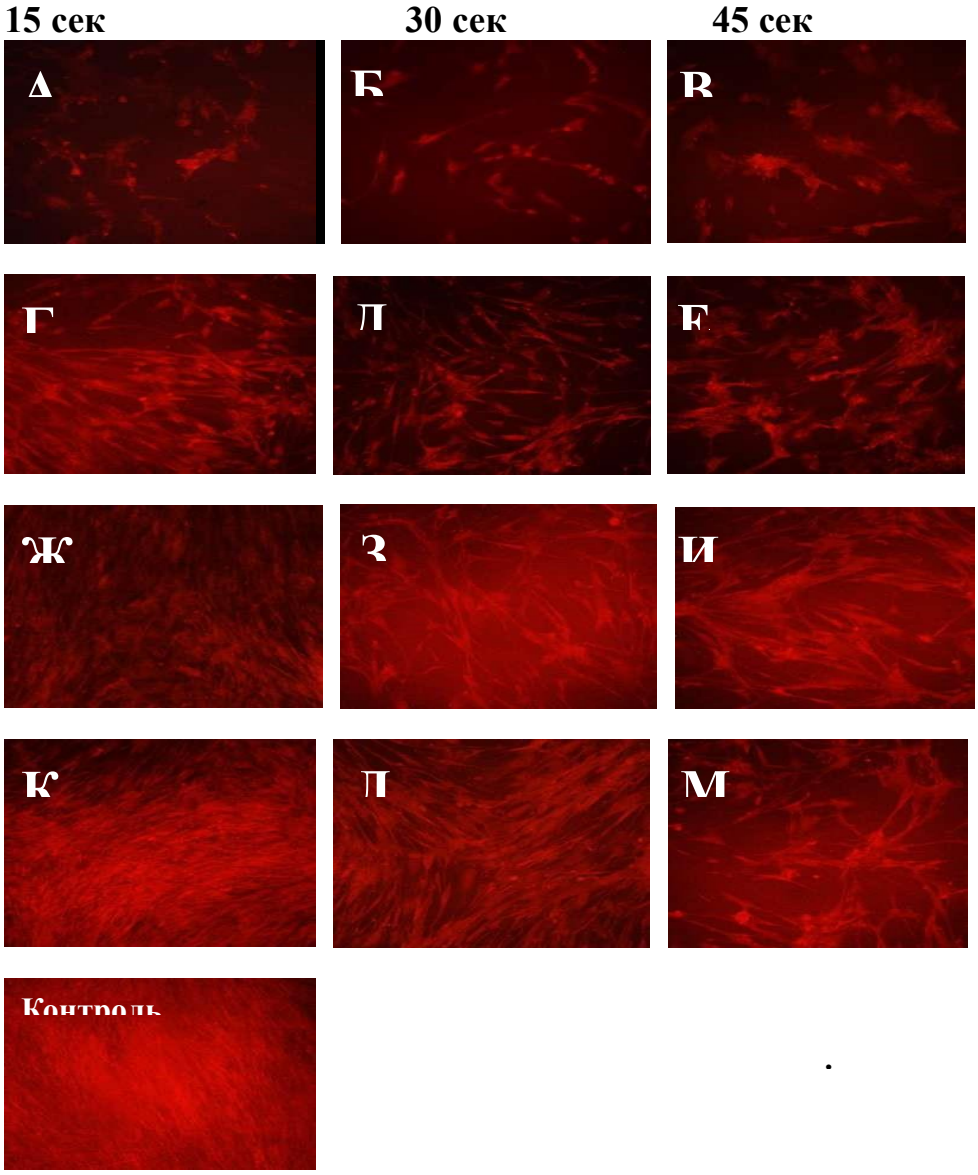


Рис. 5.19. Витальное окрашивание фибробластов человека после обработки НТАП через 3 суток культивирования. Увеличение х100.

А-В – обработка на расстоянии 10 см;
Г-Е – обработка на расстоянии 15 см;
Ж-И – обработка на расстоянии 20 см;
К-М – обработка на расстоянии 25 см.

Целостность клеточных мембран на третьи сутки, после воздействия аргоновой плазмы во всех экспериментальных сериях, была достоверно снижена. Наиболее выраженное нарушение ЦКМ отмечено в опытах, где фибробласты обрабатывали плазмой на расстоянии 10 и 15 см от сопла «Плазморана». В этих случаях значение ЦКМ не превышало 23-24 баллов. При воздействии плазмой на расстоянии 20 и 25 см снижение ЦКМ было менее выраженным, однако в этих опытах также отмечено изменение морфологии фибробластов: многие клетки формировали тонкие хаотично ориентированные псевдоподии (выросты цитоплазмы), которые часто перекрещивались с псевдоподиями других клеток (рис. 5.20). Такая многоотростчатая форма не является характерной для фибробластов, т.е. можно говорить об изменении внутрицитоплазматической структуры клеток, а также их адгезивной активности.

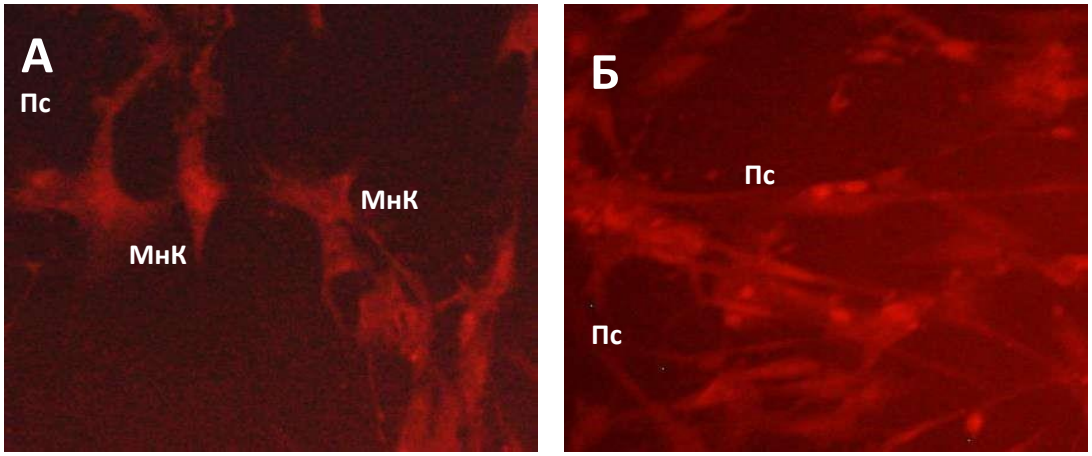


Рис. 5.20. Измененные клетки в культуре фибробластов человека после воздействия аргоновой плазмой на расстоянии 10(А) и 15(Б) см в течение 30 сек. Витальное окрашивание трипафлавином и родамином С. Увеличение х 500 раз. Условные обозначения: МнК – многоотросчатые клетки;
Пс – псевдоподии, стрелками показаны пересечения псевдоподий.

В целом, можно заключить, что выбранные режимы обработки культуры фибробластов человека аргоновой плазмой in vitro приводят к частичному снижению жизнеспособности клеток через 3 суток культивирования. Наименьшее повреждающее действие на клеточные мембраны оказывает воздействие аргоновой плазмы в течение 15 секунд с расстояния 25 см, что также способствует стимуляции пролиферативной активности клеток.

После пересева в соотношении 1:2 и культивирования в течение 3 суток общее количество клеток в чашках было сопоставимо или ниже, чем в контроле (32 тыс. клеток на 1 $см^2$, $ИП_3$ – 2,3), однако при этом в ряде опытов отмечены довольно высокие значения $ИП_3$. Так, в опыте с воздействием на расстоянии 10 см в течение 15 сек значение $ИП_3$ превышало 19, что говорит о чрезвычайно активной пролиферации фибробластов. При режимах облучения 10 см 30 и 45 сек, 15 см 45 сек, 25 см 30 и 45 сек, $ИП_3$ был выше контрольных значений. В ряде опытов в культуре наблюдалось формирование конфлюентного монослоя (рис. 5.20), в составе которого клетки имели упорядоченную ориентацию (воздействие на расстоянии 10 см в течение 15 сек, воздействие на расстоянии 25 см в течение 15 сек и 30 сек). В этих случаях плотность клеток составила 29-30 тыс/$см^2$, что было довольно близко к аналогичным значениям в контроле 32 тыс/$см^2$. В остальных опытах содержание клеток варьировало от 15 до 22 тыс/$см^2$, при которых монослой считается формирующимся. Ингибирование пролиферации фибробластов во всех опытах отсутствовало.

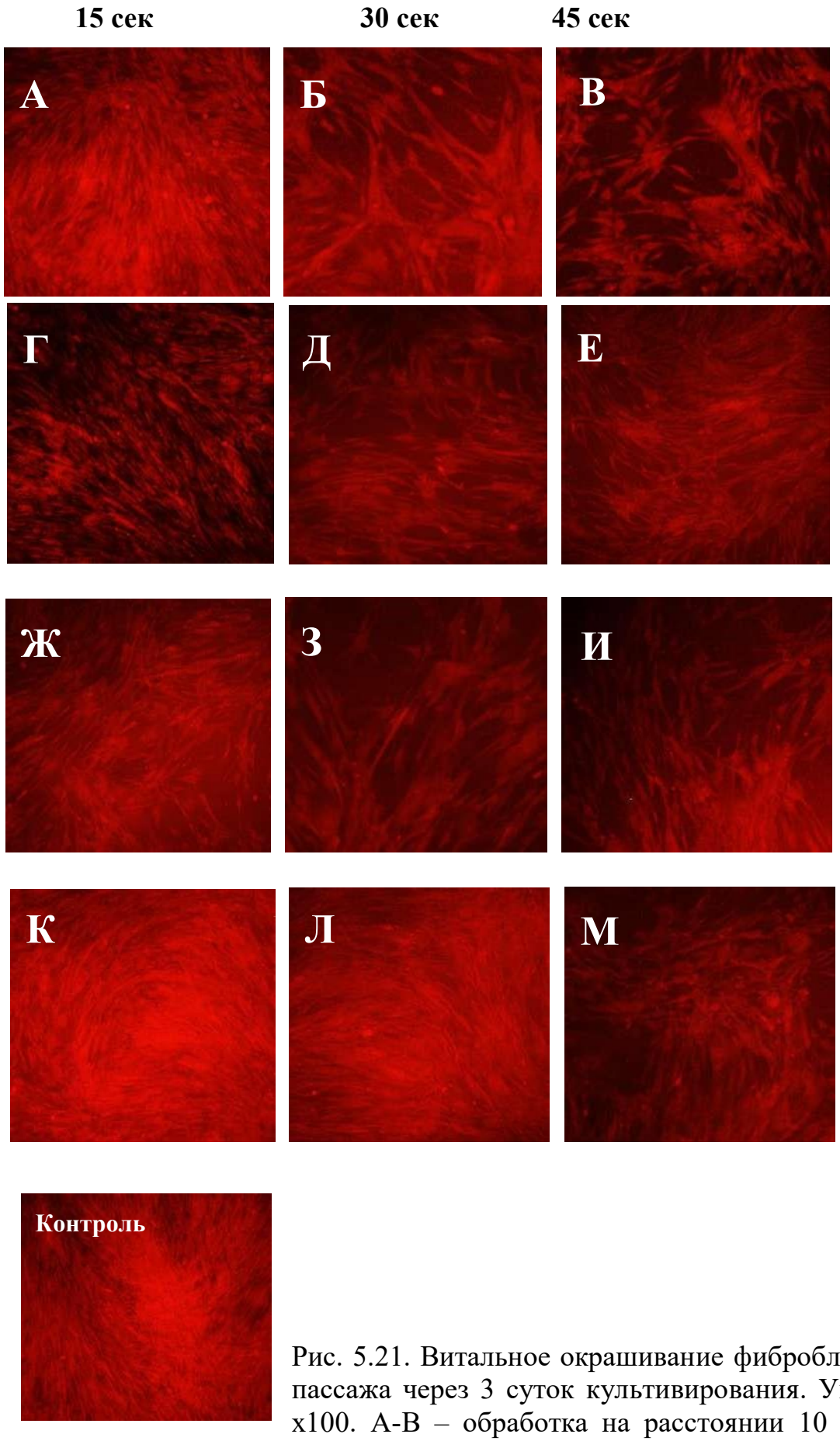


Рис. 5.21. Витальное окрашивание фибробластов 2-го пассажа через 3 суток культивирования. Увеличение х100. А-В – обработка на расстоянии 10 см; Г-Е – обработка на расстоянии 15 см; Ж-И – обработка на расстоянии 20 см; К-М – обработка на расстоянии 25 см.

Морфофункциональное исследование показало, что в образцах, где исходная обработка плазмой проводилась на расстоянии 10 и 15 см, отмечено достоверное повышение уровня ЦКМ до 27-28 баллов. Кроме того, повышение ЦКМ отмечено в опыте с обработкой плазмой на расстоянии 25 см в течение 15 сек (до 29 баллов); в остальных опытах значения ЦКМ выражено не менялись. С другой стороны, во всех опытных чашках второго пассажа по-прежнему выявлялись клетки измененной формы с большим количеством отростков, а также были выявлены вакуолизированные и ошаренные клетки с характерными апоптотическими изменениями (рис. 5.21, 5.22). Таким образом, структурная целостность всей популяции фибробластов при повторном пересеве восстанавливалась лишь частично.

Можно заключить, что воздействие НТАП не вызывало необратимого ингибирования пролиферативной активности фибробластов, которая реализовывалась после пересева и в итоге превышала контрольные показатели. Структурная целостность клеточных мембран частично восстанавливалась, однако при этом в культуре сохранялись поврежденные и измененные клетки.

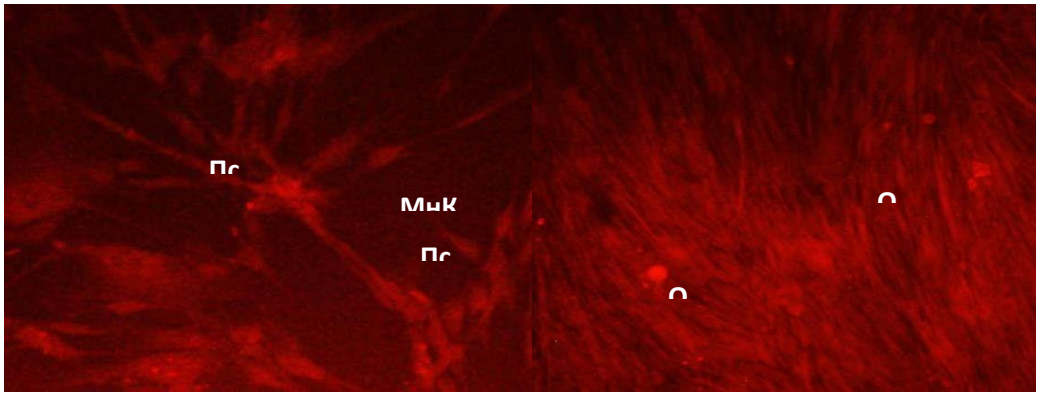


Рисунок 5.22. Выявление измененных клеток в культуре фибробластов человека после воздействия низкотемпературной аргоновой плазмой на расстоянии 10 см в течение 30 сек (А) и 15 см в течение 45 сек (Б). Витальное окрашивание трипафлавином и родамином С. Увеличение х 500 раз.
Условные обозначения: МнК – многоотросчатые клетки; Пс – псевдоподии, стрелками показаны пересечения псевдоподий; Ош – ошаренные клетки.

5.5. Воздействие аргоновой плазмой на фоне экранирования клеток коллагеновой повязкой

В условиях in vivo в ране жизнеспособные клетки находятся на разной глубине в толще коллагеновых и эластиновых волокон, а также мигрируют в область раны в процессе репарации. При этом межклеточное вещество, с одной стороны может предохранять гистиоциты от прямого повреждающего действия факторов газового потока аргоновой плазмы, а с другой снижать их терапевтический эффект. Поэтому было использована в качестве дополнительного эксперимента модель, где монослой клеток укрыт структурами на основе волокон межклеточного матрикса, как это имеет место in vivo. В качестве биологического экрана была применена раневая повязка на основе коллагена человека 1-го типа. Толщина коллагеновой повязки во всех случаях составляла 100 мкм. Для подготовки эксперимента культуру фибробластов человека высаживали в чашки Петри и культивировали в течение 24 часов (как и в предыдущей серии экспериментов). Через 24 часа после посева во все чашки Петри (15 образцов) поверхность культуральной среды (1 мл на чашку) укрывали коллагеновой повязкой площадью 5-6 $см^2$, после чего в экспериментальных чашках (11 образцов) проводили обработку низкотемпературной аргоновой плазмой в следующих режимах: 10 см от поверхности культуральной среды (время обработки 15 и 45 сек); 15 см от поверхности культуральной среды (время обработки 45 сек). После обработки коллагеновые повязки вынимали из контрольных и опытных чашек, и анализировали во флуоресцентном микроскопе с целью оценить возможные изменения топографии коллагеновых волокон, а также интенсивность свечения отдельных волокон (в фут-канделах). По нашим наблюдениям, изменение компактизации коллагена, а также его химическое разрушение сопровождается изменением аутофлуоресценции коллагеновых волокон. Оценку качества фибробластов проводили по той же схеме, как и в опытах без коллагеновых повязок (морфофункциональный анализ через 3 суток культивирования после облучения, затем пересев клеток в соотношении 1:2, повторное

культивирование в течение 3 суток и повторный анализ).

Во всех экспериментальных чашках Петри уже через 2 часа воздействия наблюдалось локальное отслоение групп клеток от дна, потеря ими адгезивной активности, а также выраженные структурные изменения. В таких зонах также можно было видеть клеточный дебрис, т.е. скопления разрушенных и фрагментированных клеток. В контрольных чашках Петри формирование клеточного дебриса не наблюдалось, клетки были равномерно распределены по дну и имели нормальную морфологию. Через 3 суток культивирования содержание клеток во всех экспериментах было ниже, чем в контроле (табл. 5.20).

Таблица 5.20

Морфофункциональные характеристики культуры фибробластов 1-го и 2-го пассажа через 3 суток культивирования после воздействия холодной аргоновой плазмы с использованием экранированием клеток с помощью коллагеновой повязки

1-й пассаж (Экранирование клеток коллагеновой повязкой – воздействие плазмы – культивирование 3 суток)						
Условия обработки аргоновой плазмой		Морфофункциональные параметры				
Расстояние от сопла до поверхности среды	Продолжитель-ность воздействия	Содержание клеток в культуре, тыс/см^2		ЦКМ, баллы		$ИП_3$
		Через 1 сутки культивирования (до воздействия)	Через 3 суток культивирования	Через 1 сутки культивирования (до воздействия)	Через 3 суток культивирования	
контроль		18,5 [17,6; 19,3]	22 [20;28]	32 [32; 32]	32 [32; 33]	1,31
10 см	15 сек	19 [18; 19,5]	18 [14,8;20,5]	32 [32; 32]	29 [26,8; 30]	0,94
10 см	45 сек	18,5 [17,8; 19,2]	8 [6; 15]	32 [32; 32]	27 [26; 28]	0,56
15 см	45 сек	19 [18,7; 20,2]	13 [9; 17,8]	32 [32; 32]	28,5 [27; 30]	0,66

В опыте с обработкой на расстоянии 10 см в течение 15 сек отмечено формирование конфлюентного монослоя, т.е. в данном случае не наблюдалось значительной убыли клеток, как это имело место в аналогичном опыте без экранирования. Значение индекса пролиферации через 3 суток культивирования в опытах с обработкой на расстоянии 10 см в течение 15 сек составило 0,94, на расстоянии 10 см и 45 сек – 0,56, на расстоянии 15 см и 45 сек – 0,66, что также было ниже контрольного (1,2).

Среднее значение ЦКМ в опытах с обработкой на расстоянии 10 см в течение 15 сек через 3 суток культивирования составляло 28,1 баллов, на расстоянии 10 см и 45 сек – 27,5 баллов, на расстоянии 15 см и 45 сек – 28,2 балла, что было достоверно ниже, чем в контроле (32 балла). В экспериментах с экранированием коллагеновой повязкой значения ЦКМ были выше, чем при аналогичном воздействии без экранирования. Наличие коллагеновой повязки заметно увеличивало общее число клеток и значение $ИП_3$ в опытах с обработкой на расстоянии 10 см в течение 15 сек.

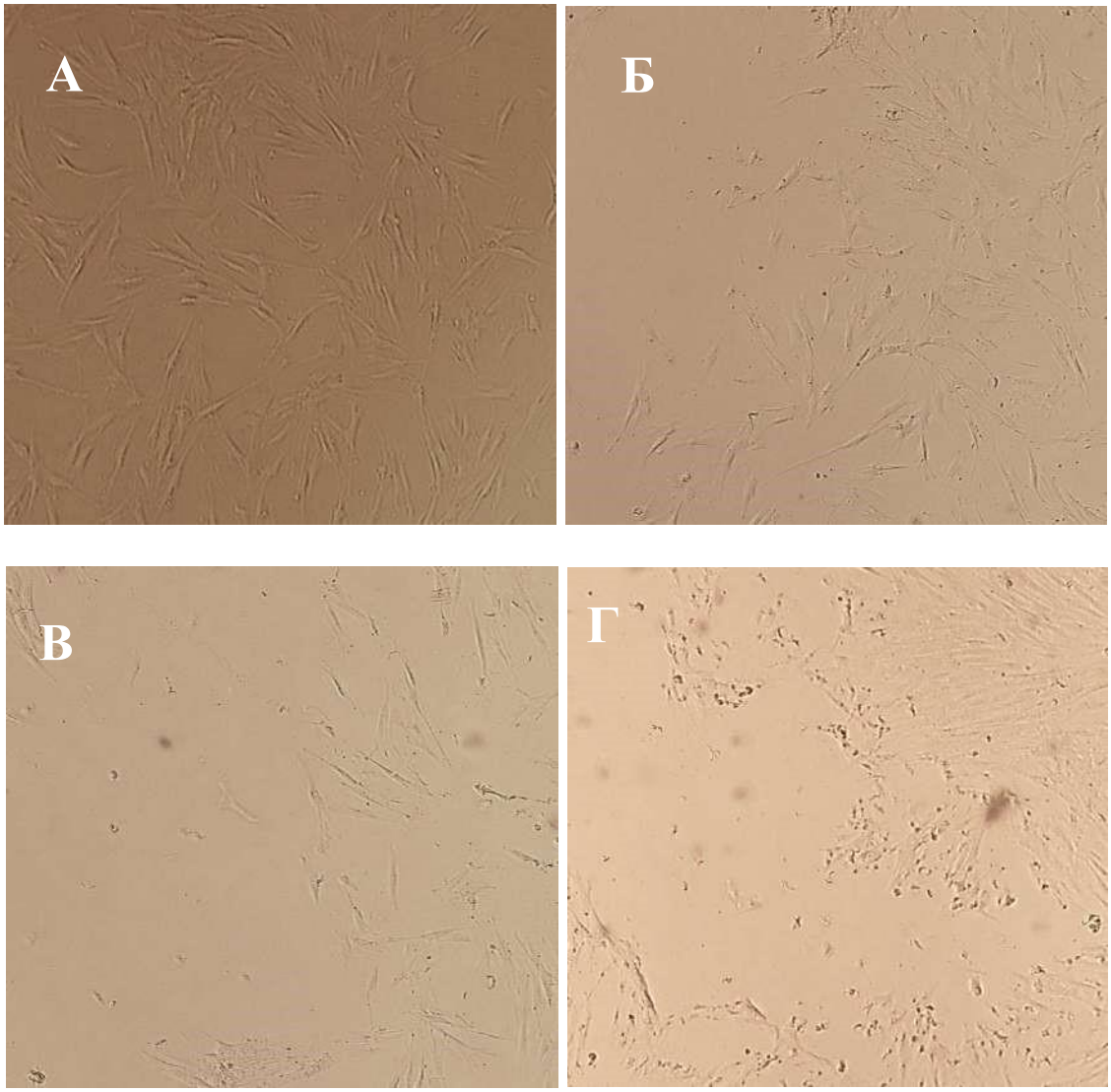


Рисунок 5.23 Культура фибробластов через 2 часа после воздействия аргоновой плазмы. Проходящий свет. Увеличение х40. А – контрольная культура; Б – обработка плазмой на расстоянии 10 см в течение 15 сек; В – обработка плазмой на расстоянии 10 см в течение 45 сек; Г – обработка плазмой на расстоянии 15 см в течение 45 сек.

Анализ аутофлуоресценции коллагена повязок не выявил видимых изменений в структуре волокон после воздействия низкотемпературной плазмой. Во всех опытах коллагеновые волокна имели такую же топографию, как в контроле, средняя интенсивность аутофлуоресценции волокон составляла 37,9 фут-кандел в контроле и 37,5-39,4 фут-кандел в опытах, т.е. декомпактизации или разрушения коллагена под действием плазмы не происходило. Морфофункциональный анализ показал, что при экранировании культуры коллагеновой повязкой нарушение структуры клеток при воздействии на расстоянии 10 см в течение 15 сек было гораздо менее выраженным. При этом во всех экспериментах выявлялись зоны, где плотность клеток была резко снижена, а сами клетки имели измененную морфологию, образовывали тонкие хаотично ориентированные псевдоподии, содержали вакуоли и имели сниженную яркость цитоплазмы. Аналогичная картина отмечалась в опытах без экранирования коллагеном. Вместе с тем, доля сильно измененных или поврежденных клеток при использовании коллагенового экрана была ниже, чем при воздействии плазмы непосредственно на среду с клетками. Таким образом, наличие коллагенового экрана снижает повреждающее действие аргоновой плазмы, но не устраняет его полностью.

После пересева клеток в соотношении 1:2 и повторном культивировании в течение 3 суток наблюдалось восстановление структурной целостности фибробластов, а также целостности их мембран. Через 3 суток культивирования в опытных чашках Петри во многих зонах выявлен конфлюентный (плотный) монослой клеток, однако общее количество клеток на 1 $см^2$ достоверно отличалось в разных опытах. При воздействии плазмой на расстоянии 10 см в течение 15 сек среднее содержание клеток в культуре составило 26,4 $тыс/см^2$, на расстоянии 10 см в течение 45 сек – 25,3 $тыс/см^2$, на расстоянии 15 см в течение 45 сек – 22,2 $тыс/см^2$. Индекс пролиферации составил соответственно 3,2, 4,8 и 3,6 соответственно. В то же время в контрольных чашках Петри содержание клеток через 3 суток культивирования составило в среднем 27,0 $тыс/см^2$,

индекс пролиферации – 2,2.

Через 3 суток культивирования во всех опытах практически не выявлялись клетки измененной или многоотростчатой формы, общая морфология фибробластов соответствовала норме. Значение ЦКМ соответствовала нормальным показателям.

Таким образом, после экранирования коллагеном и двухэтапного пассирования фибробласты сохраняли нормальную способность к пролиферации. Во всех опытах индекс пролиферации во втором пассаже был выше, чем в контроле. Это может быть связано с тем, что воздействие низкотемпературной аргоновой плазмы кумулятивно стимулировало рост наиболее жизнеспособных клеток в культуре.

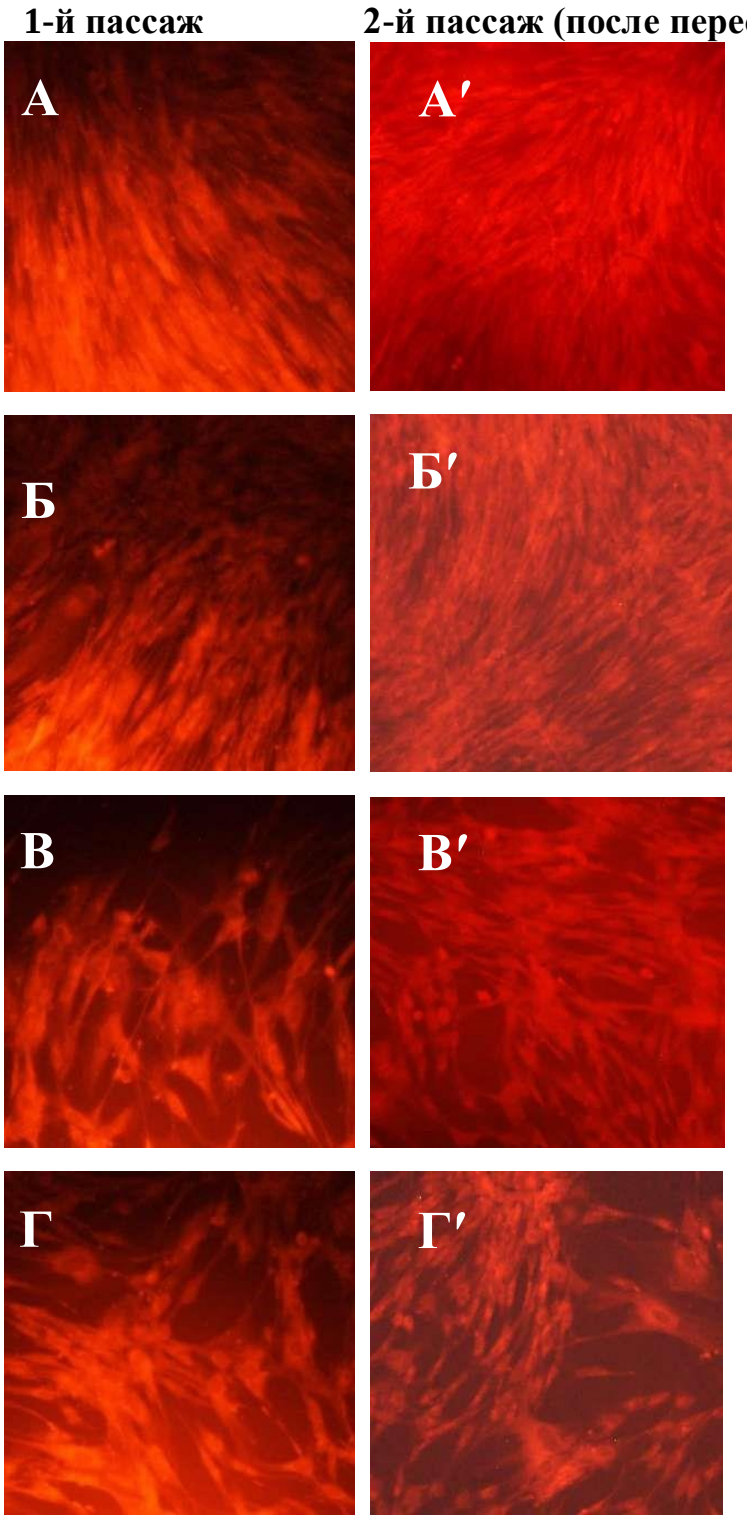


Рис. 5.24. Витальное окрашивание фибробластов человека после обработки плазмой через 3 суток культивирования. Увеличение х 100.
А, А′ – контроль; Б, Б′ – воздействие 10 см -15 сек;
В, В′ – воздействие 10 см – 45 сек; Г, Г′ – воздействие 15 см – 45 сек

Обсуждение результатов воздействия НТАП на культуру фибробластов

Низкотемпературная аргоновая плазма используется при лечении острых и хронических ран с целью купировавния инфекционного процесса,

удаления клеточного и тканевого дебриса. Есть данные, что воздействие холодной плазмы стимулирует рост и дифференцировку диплоидных клеток человека [232], однако тонкие механизмы такой стимуляции остаются невыясненными. Низкотемпературная плазма заметно повышает проницаемость клеточных мембран, что в ряде случаев может стимулировать проникновение в клетку сигнальных молекул, активирующих ионов (в частности, ионов калия, кальция и магния), и таким образом запускать разные формы клеточной активности.

Наше исследование показало, что в опытах без экранирования значительная часть клеток разрушалась, теряла связь с подложкой в течение 1-3 суток культивирования, в результате через 3 суток в опытах наблюдалась убыль клеток. С другой стороны, такая убыль не препятствовала интенсивному росту клеток во втором пассаже. Не исключено, что под действием плазмы наиболее жизнеспособная часть популяции постепенно кумулирует факторы активации, которые затем способствуют активному делению. Вместе с тем, даже на фоне интенсивного роста во 2-м пассаже многие клетки имеют измененную форму, и не восстанавливают полностью структуру мембран. Наименьшее повреждение клеток отмечено при режиме обработки плазмой 15 сек на расстоянии 25 см. В этом случае нарушения структурная целостность фибробластов была ближе всего к нормальной. Вместе с этим, во втором пассаже пролиферативная активность клеток была как у клеток контрольной серии.

Наибольшее стимулирующее действие на пролиферативную активность фибробластов на втором пассаже отмечено при обработке культуры на расстоянии 10 см в течение 30 и 45 секунд и 15 см в течение 45 секунд. При таких режимах обработки клеток аргоновой плазмой на втором пассаже также отмечали восстановление ЦКМ. После воздействия с расстояния 20 см даже на втором пассаже сохранялся низкий показатель структурной полноценности клеток на фоне не высокого пролиферативного потенциала.

Использование экрана в виде коллагеновой повязки позволило

значительно повысить сохранность фибробластов в первом пассаже, как с точки зрения общего количества клеток в культуре, так и с точки зрения целостности их мембран. После пересева клетки, обработанные на расстоянии 10 см с использованием экрана, создавали полноценный конфлюэнтный монослой, плотно заполняя практически все дно чашки Петри.

Стоит отметить, что в отличие от экспериментов in vitro, при клиническом использовании низкотемпературной плазмы воздействие не осуществляется напрямую на монослой клеток. Не исключено, что при клиническом использовании повреждение клеток будет гораздо менее выраженным, чем in vitro. Для лучшего понимания эффекта холодной плазмы необходимо изучить процессы, происходящие в цитоплазме клетки, подверженной воздействию.

Таким образом, воздействие низкотемпературной аргоновой плазмы на культуру фибробластов человека без экранирования вызывает снижение структурной целостности клеток через 3 суток культивирования. При обработке культуры на расстоянии 10 и 15 см происходит нарушение клеточной адгезии. Наиболее щадящим для культуры фибробластов человека является режим обработки на расстоянии 25 см в течение 15 секунд.

При пересеве культуры фибробластов структурная целостность клеток частично восстанавливается, наблюдается нормальная пролиферативная активность клеток. При этом общая морфология многих клеток остается измененной.

Стимуляция пролиферативной активности фибробластов отмечена на втором пассаже после обработки низкотемпературной аргоновой плазмой с расстояния 10 см 30 и 45 секунд и 15 см 45 секунд.

Использование экрана в виде коллагеновой повязки заметно увеличивает выживаемость клеток при воздействии плазмы с расстояния

10 см в течение 15 сек. На фоне экранирования снижение целостности клеточных мембран после воздействия плазмы менее выражено, чем при воздействии без экранирования. При повторном посеве клетки, обработанные в присутствии коллагенового экрана, проявляют высокую пролиферативную активность и восстанавливают целостность мембран.

При действии с расстояния 20 см вне зависимости от времени экспозиции аргоновая плазма приводит к изменению целостности клеточных мембран, которое сохраняется на втором пассаже и не сопровождается стимуляцией пролиферации клеток.

5.6. Оценка влияния факторов низкотемпературной аргоновой плазмы на течение раневого процесса у больных СДС

Целью данного исследования явилась оценка влияния факторов низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП) на динамику раневого процесса у пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС) и полирезистной инфекцией.

Проведено сравнительное проспективное исследование с участием 60 пациентов, разделенных на две группы:

- группа 1 (основная, n=30): пациенты, получавшие комплексное лечение с применением НТАП. Воздействие осуществлялось в режиме Б2 с экспозицией 15 секунд на единицу площади при расстоянии 10 см от раневой поверхности.
- группа 2 (контрольная, n=30): пациенты с полирезистентной раневой инфекцией, получавшие стандартную терапию без применения НТАП.

Критерии включения

В исследование были включены пациенты, соответствующие следующим критериям:

- Возраст от 18 до 75 лет;

- Наличие гнойно-некротической раны или трофической язвы на фоне сахарного диабета, полинейропатической инфицированной формой СДС осложненной полирезистентной инфекцией;
- Площадь раневого дефекта в пределах 5–25 см².

Критерии исключения

Из исследования исключались пациенты с:

- Онкологическими заболеваниями, включая малигнизацию кожи;
- Декомпенсированными хроническими заболеваниями (ИБС, ХОБЛ, цирроз печени и др.);
- Выраженным атеросклерозом (стеноз артерий ≥ 65% или окклюзия сосудов нижних конечностей);
- Хронической сердечной недостаточностью II–III стадии;
- Хронической почечной недостаточностью;
- Сепсисом или полиорганной недостаточностью;
- Неконтролируемой декомпенсацией сопутствующих заболеваний.

Исследования проводились:

- «1» – на первый день лечения, перед первой обработкой факторами НТАП;
- «3» – на третий день лечения, перед третьей обработкой факторами НТАП;
- «6» – на шестой день лечения, перед шестой обработкой факторами НТАП;
- «9» – на девятый день лечения, перед девятой обработкой факторами НТАП.

5.7. Анализ результатов исследования

Общий анализ крови

По результатам оценки различий в динамике показателей общего анализа крови между группами сравнения не выявлено.

Таблица 5.21

Динамика показателей общего анализа крови

Параметр	Срок, сут	Группа 2 (без НТАП, n=30)	Группа 1 (с НТАП, n=30)	p*
Гемоглобин, г/л	1	114 (110–118)	124 (118–130)	>0,05
	3	107 (102–112)	122 (115–129)	>0,05
	6	116 (112–120)	128 (123–133)	>0,05
	9	117 (114–120)	126 (121–131)	>0,05
Гематокрит, %	1	35,0 (33,6–36,4)	37,8 (35,7–39,9)	>0,05
	3	32,4 (30,1–34,7)	37,9 (36,5–39,3)	<0,05
	6	35,6 (32,2–39,0)	38,0 (34,3–41,7)	>0,05
	9	35,7 (32,9–38,5)	38,0 (33,9–42,1)	>0,05
Эритроциты, 10^{12}/л	1	4,25 (3,45–5,05)	4,25 (3,90–4,60)	>0,05
	3	3,90 (3,20–4,60)	4,26 (3,42–5,10)	>0,05
	6	4,30 (3,89–4,71)	4,26 (3,54–4,98)	>0,05
	9	4,30 (3,78–4,82)	4,30 (3,78–4,82)	>0,05
Тромбоциты, 10^{9}/л	1	342 (332–352)	300 (293–307)	<0,05
	3	335 (325–345)	321 (316–326)	>0,05
	6	300 (291–309)	297 (289–305)	>0,05
	9	285 (278–292)	325 (312–338)	<0,05
Лейкоциты, 10^{9}/л	1	16,9 (11,3–22,5)	17,6 (16,1–19,1)	>0,05
	3	13,4 (11,6–15,2)	11,6 (9,4–13,8)	<0,05
	6	9,7 (7,8–11,6)	7,6 (6,2–9,0)	<0,05
	9	7,4 (5,7–9,1)	6,4 (5,1–7,8)	<0,05

Проведённое исследование продемонстрировало значительное влияние низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП) на динамику гематологических показателей в процессе лечения. Наиболее выраженные изменения наблюдались в показателях лейкоцитарной формулы, что свидетельствует о мощном противовоспалительном действии данного метода.

В группе пациентов, получавших НТАП-терапию, отмечалось последовательное и статистически значимое снижение уровня лейкоцитов. Исходные значения в обеих группах были сопоставимы: в группе 1 — 17,6 (16,1–19,1) ×10^{9}/л, в группе 2 — 16,9 (11,3–22,5) ×10^{9}/л ($p>0,05$). Уже к третьим суткам лечения в группе НТАП наблюдалось уменьшение лейкоцитоза до 11,6 (9,4–13,8) ×10^{9}/л, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 13,4 (11,6–15,2) ×10^{9}/л ($p<0,05$). К шестым суткам терапии показатели в группе НТАП достигли референсных значений — 7,6

(6,2–9,0) ×10⁹/л, в то время как в контрольной группе лейкоцитоз сохранялся — 9,7 (7,8–11,6) ×10⁹/л ($p<0,05$). К окончанию исследования (девятые сутки) в группе НТАП показатели стабилизировались на уровне 6,4 (5,1–7,8) ×10⁹/л, что соответствует полной нормализации гематологического статуса и достоверно ниже, чем в контрольной группе — 7,4 (5,7–9,1) ×10⁹/л ($p<0,05$).

Примечательно, что столь выраженная положительная динамика не сопровождалась значимыми изменениями других показателей крови. Уровни гемоглобина в группе НТАП варьировали от 122 (115–129) до 128 (123–133) г/л, в контрольной группе — от 107 (102–112) до 117 (114–120) г/л ($p>0,05$ во все сроки наблюдения). Показатели гематокрита в группе НТАП составляли 37,8–38,0%, в контрольной группе — 32,4–35,7% (различия статистически значимы только на 3-и сутки: 37,9 (36,5–39,3)% против 32,4 (30,1–34,7)%, $p<0,05$). Количество эритроцитов оставалось стабильным в обеих группах ($p>0,05$ во все сроки). Уровень тромбоцитов в группе НТАП составил 300–325 ×10⁹/л, в контрольной группе — 285–342 ×10⁹/л (статистически значимые различия отмечены на 1-е сутки: 300 (293–307) против 342 (332–352), $p<0,05$, и на 9-е сутки: 325 (312–338) против 285 (278–292), $p<0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о селективном действии НТАП, направленном преимущественно на купирование воспалительного процесса без существенного влияния на другие компоненты кроветворной системы. Это подтверждает хорошую переносимость лечения и его безопасность для системы кроветворения.

Быстрое достижение и стабильное поддержание нормальных показателей лейкоцитарной формулы подтверждает патогенетическую обоснованность применения данного метода в комплексной терапии. При этом сохранение физиологического баланса других гематологических параметров свидетельствует о высокой клинической эффективности НТАП и в коррекции воспалительных проявлений.

Таблица 5.22

Динамика биохимических показателей крови

Показатель	Срок, сут	Группа 2 (без НТАП, n=30)	Группа 1 (с НТАП, n=30)	p*
Глюкоза, ммоль/л	1	8,0 (7,2–8,8)	9,4 (8,1–10,7)	<0,05
	3	7,5 (5,7–9,3)	8,3 (7,5–9,1)	>0,05
	6	7,2 (5,5–8,9)	7,5 (6,6–8,4)	>0,05
	9	7,4 (5,9–8,9)	6,2 (5,4–7,0)	<0,05
Мочевина, ммоль/л	1	6,2 (5,4–7,0)	7,8 (6,8–8,8)	<0,05
	3	5,8 (5,2–6,4)	6,4 (5,5–7,3)	>0,05
	6	5,6 (5,1–6,1)	5,7 (5,0–6,4)	>0,05
	9	5,6 (5,1–6,1)	5,6 (4,9–6,3)	>0,05
Общий белок, г/л	1	68,1 (63,4–72,8)	65,7 (59,4–72,0)	>0,05
	3	68,2 (63,4–73,0)	67,8 (62,1–73,5)	>0,05
	6	67,0 (61,9–72,1)	68,4 (62,2–74,6)	>0,05
	9	69,7 (64,8–74,6)	69,2 (64,3–74,1)	>0,05
СРБ, мг/л	1	59,9 (55,4–64,4)	78,5 (72,7–84,3)	<0,01
	3	38,4 (35,3–41,5)	55,4 (51,5–59,3)	<0,01
	6	27,9 (24,7–31,1)	27,9 (23,4–32,4)	>0,05
	9	24,9 (22,3–27,5)	9,4 (6,7–12,1)	<0,01

Проведенное исследование демонстрирует выраженную корреляцию между применением НТАП и улучшением лабораторных параметров, отражающих интенсивность воспалительного ответа.

В группе 1 уровень СРБ снизился с 78,5 (72,7–84,3) мг/л до 9,4 (6,7–12,1) мг/л к 9-м суткам ($p<0,01$), тогда как в группе 2 уменьшение было менее значительным — с 59,9 (55,4–64,4) мг/л до 24,9 (22,3–27,5) мг/л ($p<0,01$).

Важно отметить, что наиболее быстрое снижение СРБ в группе с применением НТАП наблюдалось в интервале между 6-ми и 9-ми сутками: с 27,9 (23,4–32,4) до 9,4 (6,7–12,1) мг/л, что свидетельствует об ускорении купирования воспалительного процесса на фоне плазменной терапии. В группе 2 к 9-м суткам уровень СРБ оставался значительно выше и составлял 24,9 (22,3–27,5) мг/л.

При этом важно подчеркнуть, что наблюдаемые положительные изменения происходили на фоне сохранения стабильности других биохимических показателей (общий белок, мочевина), что свидетельствует о хорошем профиле безопасности применяемого метода.

Динамика уровня глюкозы имела статистически значимые различия между группами. В группе 1 уровень глюкозы снизился с 9,4 (8,1–10,7)

ммоль/л на 1-е сутки до 6,2 (5,4–7,0) ммоль/л к 9-м суткам ($p<0,05$), тогда как в группе 2 показатель оставался стабильным на уровне 7,4 (5,9–8,9) ммоль/л. Уровень мочевины в обеих группах имел сопоставимую динамику: к 9-м суткам значения нормализовались до 5,6 (4,9–6,3) ммоль/л в группе 1 и 5,6 (5,1–6,1) ммоль/л в группе 2 ($p>0,05$). Показатели общего белка на всех сроках наблюдения не имели статистически значимых межгрупповых различий и оставались в пределах референсных значений.

Сочетанная оценка динамики глюкозы и СРБ предоставляет убедительные доказательства клинической эффективности низкотемпературной плазменной терапии в контроле воспалительных процессов и метаболических нарушений у пациентов с синдромом диабетической стопы.

Анализ бактериологических исследований

В ходе проведения исследований была проведена оценка влияния факторов НТАП на жизнедеятельность микробов в ране.

Наблюдения и измерения производились в первые 4 дня лечения. Это было связано с тем фактом, что в этот период у всех участников исследования раны гарантированно находились в фазе воспаления. Соответственно, разделение основной группы на подгруппы не производилось. В исследовании рассматривались контрольная группа «2» и группа «1».

В обеих группах сравнения в процессе перевязки после снятия «старой» повязки, обработки раны антисептиком и осушения стерильной салфеткой брали биоптат из трех точек раневой поверхности.

В рамках микробиологического исследования в основной группе проводились посевы биологического материала до и после обработки раневых поверхностей факторами НТАП (низкотемпературной аргоновой плазмы). Данный подход позволил оценить динамику микробной обсемененности и эффективность антимикробного воздействия.

Результаты исследования продемонстрировали значимое снижение количества колониеобразующих единиц (КОЕ) после применения НТАП, для оценки выраженности антибактериального эффекта и продолжительности его действия.

В результате было выявлено, что в составе раны присутствовали бактериальные культуры: Acinetobacter baumannii, Corynebacterium amycolatum, Corynebacterium striatum, Enterococcus avium, Enterococcus faecalis, Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus MR, Staphylococcus epidermidis и другие.

Результаты исследования уровня микробной обсемененности раневых поверхностей при обработке факторами НТАП представлены в табл 5.23.

Таблица 5.23

Динамика микробной обсемененности раны под воздействием НТАП

Срок, сут	Группа 2 (без НТАП, n=30)	Группа 1 (с НТАП, n=30)		p*
		До обработки	После обработки	
1	5,7 (5,3–6,1)	6,4 (5,7–7,1)	4,2 (3,7–4,7)	<0,05
3	5,1 (4,4–5,8)	5,1 (4,7–5,5)	3,1 (2,8–3,4)	<0,01
6	5,0 (4,6–5,4)	4,0 (3,5–4,5)	2,0 (1,8–2,2)	<0,001
9	5,2 (4,5–5,9)	3,2 (2,8–3,6)	1,6 (1,4–1,8)	<0,001

Примечание: p — уровень значимости при сравнении показателей до и после обработки НТАП в группе 1 . Межгрупповые различия между группой 1 (после обработки) и группой 2 на 9-е сутки: $p<0,001$.

В ходе проведения исследований была проведена оценка влияния факторов НТАП на жизнедеятельность микроорганизмов в ране. Наблюдения и измерения производились в первые 9 суток лечения. В исследовании рассматривались контрольная группа 2 (стандартная терапия, n=30) и основная группа 1 (НТАП-терапия, n=30).

В обеих группах в процессе перевязки после снятия повязки проводился забор биологического материала для микробиологического исследования. В основной группе посевы выполнялись до и после обработки раневых поверхностей факторами НТАП, что позволило оценить динамику микробной обсемененности и эффективность антимикробного воздействия.

В результате микробиологического исследования было выявлено, что в составе раневой микрофлоры присутствовали следующие бактериальные культуры: Acinetobacter baumannii, Corynebacterium amycolatum, Corynebacterium striatum, Enterococcus avium, Enterococcus faecalis, Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus MR, Staphylococcus epidermidis и другие. Во всех исследуемых случаях из раневых поверхностей выделялись микробные ассоциации, включающие 3–4 микроорганизма, с уровнем обсемененности, превышающим 10^6 КОЕ/мл.

Проведённое исследование выявило статистически достоверные различия в динамике микробной обсемененности между группами (таблица 5.23). В контрольной группе, получавшей стандартную терапию, наблюдалось отсутствие значимой положительной динамики: уровень микробной нагрузки составил 5,7 (5,3–6,1) lg КОЕ/мл на 1-е сутки и 5,2 (4,5–5,9) lg КОЕ/мл к 9-м суткам ($p>0,05$), что свидетельствует о сохранении высокой бактериальной обсемененности на протяжении всего периода наблюдения.

В то же время в группе НТАП-терапии зарегистрировано выраженное снижение бактериальной обсемененности. Исходный уровень до обработки составлял 6,4 (5,7–7,1) lg КОЕ/мл. После однократной обработки НТАП отмечено снижение бактериальной нагрузки до 4,2 (3,7–4,7) lg КОЕ/мл ($p<0,05$). К 3-м суткам уровень обсемененности достигал 3,1 (2,8–3,4) lg КОЕ/мл ($p<0,01$), к 6-м суткам — 2,0 (1,8–2,2) lg КОЕ/мл ($p<0,001$), а к окончанию исследования (9-е сутки) сохранялись стабильно низкие показатели — 1,6 (1,4–1,8) lg КОЕ/мл ($p<0,001$). Межгрупповые различия между группой 1 (после обработки) и группой 2 на 9-е сутки составили $p<0,001$.

Ключевые аспекты антимикробного действия НТАП:

1. Мгновенный эффект: после однократной обработки отмечалось снижение бактериальной нагрузки с 6,4 (5,7–7,1) до 4,2 (3,7–4,7) lg КОЕ/мл (снижение на 2,2 lg КОЕ, $p<0,05$);

2. Кумулятивное действие: к 3-м суткам уровень обсемененности достигал 3,1 (2,8–3,4) lg КОЕ/мл ($p<0,01$);

3. Длительный контроль: к окончанию исследования (9-е сутки) сохранялись стабильно низкие показатели — 1,6 (1,4–1,8) lg КОЕ/мл ($p<0,001$);

Применение НТАП обеспечивает быстрый и надежный антимикробный эффект. Уже после первой обработки отмечалось снижение бактериальной обсемененности более чем на 2 порядка, а к моменту завершения исследования значения были ниже критического уровня ($< 10^3$ КОЕ/мл) ($p<0,001$).

Полученные данные убедительно доказывают, что НТАП обеспечивает не только статистически значимое, но и клинически значимое купирование раневой инфекции, превосходя по эффективности стандартные подходы. Эти результаты особенно важны в контексте лечения ран с полимикробной инфекцией и высокой исходной бактериальной нагрузкой.

Анализ гистологических исследований

Забор биоптата для проведения гистологических исследований во всех группах сравнения проводили на 3, 6 и 9 день лечения после обработки раны НТАП.

Результаты гистологических исследований по группам сравнения приведены в таблице 5.24.

В таблицах приняты следующие сокращения:

ТД – тканевой детрит;

ГТн – грануляционная ткань, состоящая из нейтрофилов;

ГТлгк – грануляционная ткань, состоящая из лимфо-гистиоцитарных клеток;

ФН – фибриноидное набухание;

КС – кровеносные сосуды;

ФТ – фиброзная ткань.

Морфологическое исследование свидетельствует о более активной динамике раневого процесса. Она проявляется в более активном уменьшении доли тканевого детрита в основных подгруппах, увеличении доли фиброзной ткани, уменьшении доли фибриноидного набухания, увеличении доли кровеносных сосудов.

Наиболее выраженный эффект (на момент окончания лечения) наблюдался в группы 1. При этом в группы 2 отмечается обычная динамика раневого процесса характерная для СДС.

Таблица 5.24

Результаты гистологических исследований

Параметры обработки	Группа 2 (без НТАП, n=30)			Группа 1 (с НТАП, n=30)		
	3 сут	6 сут	9 сут	3 сут	6 сут	9 сут
ТД	38,9%	27,8%	20,8%	29,8%	17,8%	9,5%
ГТн	15,8%	15,1%	12,2%	17,0%	12,1%	8,9%
ГТлгк	8,5%	11,3%	14,5%	4,4%	14,3%	15,6%
ФН	16,8%	13,9%	8%	13,3%	12,2%	3,3%
КС	8,9%	15,3%	16,7%	14,5%	17,9%	23,4%
ФТ	11,1%	16,6%	27,8%	21,0%	25,7%	39,3%
∑	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%

На третий день исследования у пациентов с полирезистентной инфекцией, развившейся на фоне синдрома диабетической стопы (СДС), были получены результаты гистологического анализа, которые позволили выявить ключевые особенности течения патологического процесса.

Одним из наиболее значимых гистологических признаков стал тканевой детрит - масса, состоящая из некротизированных тканей, клеточного дебриса, фибрина, бактерий и воспалительных клеток. Этот феномен является характерным маркером хронического воспаления и свидетельствует о нарушении процессов регенерации и заживления раны. В

контексте СДС образование тканевого детрита часто связано с полирезистентной инфекцией, при которой устойчивые к антибиотикам микроорганизмы препятствуют нормальному заживлению. Это приводит к длительному воспалению, ухудшению трофики тканей и прогрессированию некроза. На третий день исследования тканевой детрит был обнаружен у 38,9% пациентов группы 2, тогда как в группе 1 этот показатель составил 29,4%.

Грануляционная ткань, представленная преимущественно нейтрофилами, также стала важным объектом исследования. Нейтрофилы, как клетки иммунной системы, первыми мигрируют в очаг воспаления для борьбы с инфекцией. Их скопление в грануляционной ткани указывает на активный воспалительный процесс, связанный с бактериальной инфекцией. В группе 2 такая ткань была зафиксирована у 61,8% пациентов, в то время как в группе 1 - у 52,3%.

Особый интерес представляет грануляционная ткань, состоящая из лимфогистиоцитарных клеток, которая отражает определенную стадию воспалительного процесса и заживления. Лимфоциты и гистиоциты (тканевые макрофаги) играют ключевую роль в иммунном ответе, очищении раны от инфекции и некротических масс, а также в стимуляции регенерации. Наличие такой ткани указывает на переход от острой фазы воспаления, где преобладают нейтрофилы, к более организованному процессу заживления. Однако, несмотря на это, присутствие гнойного отделяемого и тканевого детрита свидетельствует о продолжающейся инфекции и хроническом воспалении, что характерно для полирезистентных инфекций у пациентов с диабетом. В группе 2 такая ткань встречалась у 8,5% пациентов, а в группе 1 - у 4,4%.

Фибриноидное набухание, характеризующееся повреждением стенок мелких сосудов и пропитыванием тканей фибриноидом (белковой массой из фибрина и продуктов распада клеток), также было выявлено в ходе исследования. Этот процесс возникает на фоне хронического воспаления,

инфекции и нарушенной микроциркуляции, что типично для пациентов с диабетом. Фибриноидное набухание свидетельствует о глубоком повреждении тканей и сосудов, усугубляет нарушение трофики и замедляет заживление. В группе 2 этот феномен был отмечен у 16,8% пациентов, а в группе 1 - у 13,3%.

Состояние кровеносных сосудов, особенно капилляров, играет ключевую роль в процессе заживления. Однако у пациентов с диабетом хроническая гипергликемия приводит к повреждению сосудистых стенок, нарушению микроциркуляции и снижению доставки кислорода и питательных веществ к тканям. Кровеносные сосуды визуализировались у 8,9% пациентов группы 2 и у 14,5% пациентов группы 1.

Фиброзная ткань, формирующаяся в результате длительного воспаления и хронического повреждения, также была обнаружена в ходе исследования. В группе 2 она была выявлена у 11,2% пациентов, а в группе 1 - у 21,0%.

Таким образом, сравнительный анализ двух групп выявил значительные различия в гистологической картине, что может свидетельствовать о различной динамике патологического процесса у пациентов с полирезистентной инфекцией на фоне СДС. Эти данные подчеркивают важность индивидуального подхода к лечению и мониторингу пациентов с диабетической стопой, особенно в условиях устойчивости к антибиотикам.

На шестые сутки исследования у пациентов с полирезистентной инфекцией, развившейся на фоне синдрома диабетической стопы (СДС), были выявлены более заметные различия в динамике заживления ран между исследуемыми группами. Полученные данные свидетельствуют о выраженном влиянии физических факторов НТАП (низкотемпературной антимикробной плазмы) на процессы регенерации и купирования инфекционного процесса.

Тканевой детрит был обнаружен у 27,8% пациентов группы 2, тогда как в группе 1 этот показатель составил 17,8%. Более низкий уровень тканевого детрита в группе 1 указывает на эффективное очищение раневой поверхности под воздействием НТАП.

Грануляционная ткань, представленная преимущественно нейтрофилами, была зафиксирована у 24,7% пациентов группы 2, в то время как в группе 1 этот показатель составил 12,3%. Уменьшение количества нейтрофилов в грануляционной ткани группы 1 свидетельствует о снижении острой фазы воспаления и эффективном подавлении бактериальной инфекции под воздействием НТАП.

Грануляционная ткань, состоящая из лимфогистиоцитарных клеток, встречалась у 12,3% пациентов группы 2 и у 16,5% пациентов группы 1. Более высокий процент лимфогистиоцитарных клеток в группе 1 указывает на более ранний переход от острой фазы воспаления к фазе регенерации.

Фибриноидное набухание, характеризующееся повреждением стенок мелких сосудов и пропитыванием тканей фибриноидом, было отмечено у 13,9% пациентов группы 2 и у 11,2% пациентов группы 1. Снижение этого показателя в группе 1 свидетельствует об уменьшении признаков хронического воспаления.

Кровеносные сосуды визуализировались у 15,5% пациентов группы 2 и у 18,9% пациентов группы 1. Более высокая интенсивность формирования новых капилляров в группе 1 указывает на активизацию ангиогенеза.

Фиброзная ткань была выявлена у 16,6% пациентов группы 2 и у 25,7% пациентов группы 1. Более активное формирование фиброзной ткани в группе 1 свидетельствует о стимуляции процессов репарации под воздействием НТАП, что способствует восстановлению структурной целостности тканей.

Сравнительный анализ двух групп пациентов на шестые сутки исследования выявил значительные различия в гистологической картине, что подтверждает выраженное влияние физических факторов НТАП на динамику заживления ран. В группе 1 наблюдалось более эффективное купирование

инфекционного процесса, снижение воспаления и активизация репаративных процессов. Эти данные подчеркивают перспективность применения НТАП в комплексном лечении пациентов с полирезистентной инфекцией на фоне СДС.

На девятые сутки терапии были зафиксированы наиболее значимые различия в гистологических характеристиках тканей пациентов двух исследуемых групп. В группе 2 доля тканевого детрита в среднем достигла 20%, что в два раза превышает аналогичный показатель в группе 1, где данный параметр составил 10%. При анализе грануляционной ткани было отмечено, что в группе 2 её доля с преобладанием нейтрофильных клеток составила 13%, тогда как в группе 1 этот показатель был ниже и равнялся 8,9%. В то же время, доля грануляционной ткани, образованной лимфогистиоцитарными клетками, в группе 2 составила 16,7%, что несколько уступает значению в группе 1, где данный параметр достиг 21%.

Кроме этого, в группе 2 наблюдалось более выраженное фибриновое набухание, доля которого составила 8%, что более чем в два раза превышает показатель группы 1 (3,3%). При оценке сосудистого компонента было выявлено, что в группе 2 доля кровеносных сосудов составила 16,7%, что ниже, чем в группе 1, где данный параметр достиг 23,4%. Наконец, доля фиброзной ткани в группе 2 составила 27,8%, что существенно меньше, чем в группе 1, где этот показатель равнялся 42,3%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о наличии выраженных различий в динамике репаративных процессов между группами.

1. НТАП обеспечивает более быстрое очищение раны от тканевого детрита;
2. Уменьшение воспалительной реакции и ускорение репарации;
3. НТАП стимулирует ангиогенез и ускоренное формирование фиброзной ткани;
4. Группа 2 демонстрировала типичную для СДС динамику с замедленным заживлением и сохранением признаков хронического воспаления.

Низкотемпературная аргоновая плазма представляет собой инновационный подход к лечению гнойных ран у пациентов с диабетической стопой. Её действие приводит к более быстрому и организованному заживлению за счет антимикробного действия, стимуляции ангиогенеза и активации репаративных процессов ТЯ при СДС.

Клинический пример

Больной Д., 78 лет, поступил в отделение НМИЦ ВМТ им.А.А.Вишневского МО РФ в октябре 2021 г. с жалобами на наличие трофической язвы в области основания пятого пальца правой стопы, боли, выраженный отек и покраснение кожных покровов, подъем температуры до 38,4 С.

История заболевания. С 2009 г. страдает сахарным диабетом 2 типа инсулин зависимой формы. С 2020 отметил формирование трофических язв на подошвенной поверхности правой и левой стопы. 25.05.2021 г. ампутация 2 пальца левой стопы. 08.06.2021 г. комбинированная аутодермопластика. 24.06.2021 г. - резекция головки 2 плюсневой кости, пластика раны. 02.11.2021 г. выполнена операция: экзартикуляция 3, 4, 5 пальцев и резекция 3, 4, 5 головок плюсневых костей левой стопы. Вторичная хирургическая обработка трофической язвы подошвенной поверхности левой стопы. Послеоперационный период протекал без осложнений, проводилась антибактериальная терапия (линезолид, амикацин), местное лечение, симптоматическая терапия, коррекция глюкозы крови и артериального давления. На фоне проводимого лечения рана очистилась, покрылась грануляционной тканью розового цвета. 23.11.2021 г. выполнена в плановом порядке операция: вторичная хирургическая обработка раны левой стопы. Пластика местными тканями. Послеоперационный период протекал без осложнений. Рана зажила первичным натяжением, швы удалены. На подошвенной поверхности оставалась рана без признаков воспаления. Рана зажила вторичным натяжением.

С апреля 2023 г. отметил формирование трофической язвы на

подошвенной поверхности правой стопы у основания 5-го пальца. С 30.05.2023 г. отметил на правой стопе появление отека, болей. Повышение температуры до 38 С. 06.06.2023 г. в экстренном порядке госпитализирован в отделение гнойной хирургии для дальнейшего лечения.

Сопутствующие заболевания: ИБС, стенокардия напряжения ФК 2. Нарушение проводимости сердца: приходящая блокада левой ножки п. Гиса. АВ блокада 1 степени. Гипертоническая болезнь 3 стадии, контролируемая АГ, риск ССО 4. Целевое значение АД 140/80 мм рт.ст. СКФ 66 мл/мин. (СКД – ЕР1). ХСН 1 ФК2. Бронхиальная астма персистирующая, эндогенная форма, среднетяжелого течения. Фиброзные изменения легких. Дыхательная недостаточность 1 ст. Дисциркуляторная энцефалопатия 2 ст. Остеохондроз позвоночника. Облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей. Стеноз правой передней большеберцовой артерии до 6%. OU – диабетическая ретинопатия, начальная катаракта, OS – макулопатия.

Местный статус: отек правой голени и стопы. На тыле стопы отмечена гиперемия 5-го пальца. В 4-м межпальцевом промежутке отмечается некроз кожи. На подошвенной поверхности у основания 5-го пальца трофическая язва размером 1х2 см с гнойным отделяемым. На бедренных и подколенных артериях определяется умеренная пульсация; дистальнее не определяется вследствие отека.

По данным УЗИ артерий – (амбулат): атеросклероз артерий нижних конечностей без гемодинамически значимых стенозов.



Рис. 5.25 Флегмона правой стопы I - 3 (Wi-Fi)



Рис 5.26 Вид раны на 1-е сут после операции

При поступлении лабораторные показатели крови: гликемический профиль 6.9-12.9-12.6 ммоль/л, креатинин крови - 141 ммоль/л (44-115) СКФ - 41 мл/мин, глюкозурия +, протеинурия +, лейкоциты $21*10^{9}$/л.

В день поступления выполнена операция: хирургическая обработка гнойного очага правой стопы с экзартикуляцией 5-го пальца.

При бактериальном посеве выделены мультирезистентные колонии Staphylococcus aureus (MRSA) 10^{6} КОЕ/мл, Proteus mirabilis MDR 10^{6} КОЕ/мл. В послеоперационном периоде проводилась лечение: ОВД Д (А), Лантус 25 ед вечером п/к. Глимепирид 2 мг утром и вечером. Форсига 10 мг утром. Гликемический контроль, Гидрохлортиазид по 12,5 мг утром. Т.амлодипин 5 мг 1 таб вечером. К. тиобромид 1 капс 1 раз в день утром, Беродуал по 1 дозе - 2 раза у/в, Будесонид 160 мг+формотерол 4,5 мг по 2 раза – 2 раз в сут ингаляционно.

Антимикробная терапия: Пиперациллин/тазобактам по 4,5 мг – 3 раза в сутки, Метрогил 500 мг 3 раз в сутки, Линезолид 600 мг – 2 раза в сутки.

Местное лечение: 10% р-р йодопирона, в ежедневном режиме обработка раны НТАП.



Рисунок 5.27 Вид раны на 3 сутки



Рисунок 5.28 Вид раны на 7-е сутки после операции

На следующий день после операции после удаления повязки проводили промывание раны раствором 0,9% NaCl. Больному проводился курс НТАП в течение 4 минут, процедуру проводили ежедневно по 7-й день, далее через день. Стоит отметить, что во время и после процедуры никаких аллергических и воспалительных реакций не выявлено.

Вид раны на 3-и сут (рис.5.27): отмечается сохраняющийся отек стопы, некрозы в ране, наложения фибрина, скудное гнойное отделяемое, признаки перифокального воспаления с явлениями регресса.

Цитологическое исследование. Цитограмма была представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, большая часть нейтрофилов находились в состояния распада.

Вид раны на 7-е сутки раннего послеоперационного периода (рис.5.28), отмечено уменьшение некрозов, частичное очищение раневой поверхности, появление грануляций, исчезновение отека стопы. К этому моменту достигнута полная нормализация температуры тела и основных клинико-лабораторных показателей.

Гликемический профиль 7:00 - 6,4; 13:00 - 6,8; 16:30 - 7,1 ммоль/л.

При бактериальном посеве тканей раны выделены колонии Staphylococcus aureus (MRSA) 10^5 КОЕ/мл, утративших признаки полирезистетности.

Цитологическое исследование. Цитограмма была представлена элементами воспаления нейтрофильного характера, единичными макрофагами. Это свидетельствовало о явлениях купирования острого воспаления.

Уже к 14-м суткам после операции в ране преобладала грануляционная ткань, а также начиналась краевая эпителизация раны. Какие-либо признаки острого воспаления отсутствовали.

При бактериальном посеве тканей раны выделены колонии Staphylococcus aureus (MRSA) 10^4 КОЕ/мл. Рана была подготовлена к выполнению второго этапа хирургического лечения.

Цитологическое исследование: цитограмма была представлена элементами воспаления нейтрофилами с существенным увеличением количества макрофагов. В цитологической картине присутствовали фибробласты. Это свидетельствовало о выраженной стимуляции репаративных процессов в ране.



Рис. 5.29 Вид раны на 3-исутки



Рис. 5.30 Вид раны на 5-е сутки после пластической операции

На 16-е сут выполнена операция: повторная хирургическая обработка раны правой стопы с резекцией 5,4 плюсневой костей, экзартикуляцией 4-го пальца, пластика раны местными тканями.

При интраоперационном бактериологическом исследовании выделены колонии Staphylococcus aureus (MRSA) 10^3 КОЕ/мл.

Вид стопы на 5-е сут после пластической операции (21 сутки госпитализации). Послеоперационная рана заживает первичным натяжением. На 11-е сутки после восстановительной операции (27 сутки госпитализации) пациент выписан после полного заживления раны первичным натяжением.

Представленный клинический случай подтверждает эффективность разработанного алгоритма лечения пациентов с полирезистентной инфекцией при СДС. Даже у пожилого пациента с тяжелым гнойным осложнением, полирезистентной микрофлорой и отягощенным сопутствующим фоном применение данного подхода позволило быстро стабилизировать состояние, купировать воспалительный процесс и стимулировать процессы репарации тканей. Это обеспечило благоприятные условия для успешного выполнения реконструктивной операции и сохранением функциональной опорной конечности, что свидетельствует о перспективности предложенной лечебной тактики.

ГЛАВА 6. ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОРРЕКЦИИ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВАРИАНТОВ НАРУШЕНИЯ ВЕНОЗНОГО КРОВОТОКА У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

6.1. Исследование клинической эффективности оперативной коррекции нарушений венозного кровотока у пациентов с СДС

Синдром диабетической стопы представляет собой тяжелое осложнение сахарного диабета, течение которого значительно ухудшается при сопутствующей хронической венозной недостаточности.

Патогенетические механизмы при таком сочетании заболеваний характеризуются выраженными нарушениями микроциркуляции и тканевой гипоксией. [89, 196, 225]. Это проявляется не только упорным течением раневого процесса, но и частыми рецидивами после «успешного лечения». Присоединение полирезистентной инфекции превращает стандартные протоколы лечения в неэффективные, требуя применения индивидуальных схем антимикробной терапии [164, 193, 218].

Особого внимания заслуживает тот факт, что хроническая венозная недостаточность способствует более глубокому проникновению инфекции в ткани, создавая условия для развития флегмон, абсцессов и остеомиелита. В таких случаях на фоне сохраненной артериальной проходимости может потребоваться радикальное хирургическое вмешательство - ЭВЛК.

В условиях хронической венозной недостаточности и оксидативного стресса на фоне СД применение многокомпонентных препаратов с антигипоксическим и антиоксидантным действием приобретает особую терапевтическую ценность. Такой препарат, как Цитофлавин, оказывает многоплановое воздействие на патологический процесс. Его способность улучшать энергетический метаболизм в условиях кислородного дефицита позволяет компенсировать последствия хронической гипоксии, характерной для СДС. Одновременное антиоксидантное действие помогает нейтрализовать повреждающее влияние свободных радикалов, количество которых значительно возрастает при хроническом воспалении и венозном застое [212, 235].

Сочетание венозной коррекции с метаболической терапией создает синергетический эффект, потенцируя действие каждого из терапевтических

направлений. Улучшение микроциркуляции на фоне нормализации венозного оттока усиливает доставку лекарственных компонентов к ишемизированным тканям, в то время как антигипоксическое действие способствует более полной реализации их терапевтического потенциала. Такой комплексный подход позволяет не только воздействовать на симптомы заболевания, но и влиять на глубинные механизмы его развития, что особенно важно при лечении пациентов с высоким риском развития полирезистентных инфекций и прогрессирующих трофических нарушений [88].

Таким образом, исследование направлено на углубленное изучение патогенетических механизмов и разработку комплексного алгоритма лечения при сочетанной патологии: синдрома диабетической стопы и хронической венозной недостаточности в условиях развившейся полирезистентной инфекции. В рамках работы проведен анализ взаимосвязи между нарушениями венозной гемодинамики, микроциркуляторными расстройствами и метаболическими изменениями.

Необходимость обоснования коррекции комплексного лечения ТЯ при СДС, определили изучения хирургической коррекции ХВН, метаболических и микроциркуляторных нарушений определелили необходимость проведения данного исследования.

Предполагается, что полученные результаты позволят выявить ключевые факторы, определяющие эффективность лечения, и обосновать оптимальные соотношения между различными компонентами разрабатываемой стратегии лечения.

Планируемое исследование направлено на создание персонализированного алгоритма ведения пациентов, который будет учитывать, как системные проявления заболевания, так и локальные патологические изменения. Это позволит существенно улучшить клинические результаты и снизить риск развития тяжелых осложнений у больных с ТЯ при СДС.

6.1.1. Объекты, материалы и методы исследования

В исследование включено 369 пациентов с синдромом диабетической стопы с признаками венозной недостаточности, находившихся под наблюдением в период с 2018 по 2022 гг. В соответствии с протоколом

исследования все участники были рандомизированы на две группы:

Критерии включения в клиническое исследование:

- СДС, осложненный трофическими язвами II и III степени (классификация WIFI) с недостаточностью остиального клапана СФС;

Критерии исключения пациентов в клиническое исследование:

1. раннее выполненная флебэктомия;
2. декомпенсация хронических соматических заболеваний.

Группа 1 (n=191) - пациенты, получавшие комбинированное лечение, включавшее:

- эндовенозную лазерную коагуляцию (ЭВЛК);
- курс консервативной терапии с применением Цитофлавина.

Группа 2 (n=178) - пациенты, получавшие стандартную терапию без хирургического вмешательства (подробная характеристика групп представлена в Таблице 6.1).

Всем пациентам группы 1 проведена ЭВЛК большой подкожной вены бедра (БПВ) под тумесцентной анестезией, результатом которой явилось устранение патологического вертикального рефлюкса крови в пораженной конечности. Оперативное лечение проводилось лазерными аппаратами ЛСП «ИРЭ-Полюс» (с длиной волны 0,97 мкм и ЛСП «ИРЭ-Полюс» COMPACT с длинной волны 1,55 мкм) под УЗИ наведением. Суммарная энергия зависела от диаметра БПВ и составляла от 80 до 120 Дж.

Эффективность лечения оценивалась по следующим критериям:

- полное исчезновение всех субъективных и объективных клинических признаков острого воспаления;
- уменьшение по данным объективных методов исследований острого воспаления;
- переход раневого процесса во II стадию по данным объективных методов исследований.

Микробиологическая эффективность оценивалась после завершения курса фаготерапии по следующим критериям:

- элиминация возбудителя – прекращение высева возбудителя из очага первичной локализации инфекции;

- распад ассоциаций;
- снижение микробных колоний образующих единиц в очаге инфекции штамма-мишени.

Лабораторная и клинико-инструментальная эффективность применения препарата Цитфолавин оценивалась непосредственно после окончания курса терапии по следующим критериям: содержание МДА и активность каталазы; показатели гликемического профиля; динамика заживления ран/трофических язв.

Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 6.1.

Клиническая характеристика пациентов Таблица 6.1

Параметры		группа 1 (n=191)	группа 2 (n=178)
Возраст		53,4±8,3	61,2±7,4
Длительность СД 2 типа, лет		9,3±1,9	8,2±1,9
WIFI (Инфекция)	II ст (%)	119 (61,7%)	111 (62,4%)
	III ст (%)	72 (37,6%)	67 (37,6%)
WIFI (Глубина поражения тканей стопы)	II ст (%)	120 (62,2%)	122 (68,5%)
	III ст (%)	71 (37,1%)	56 (31,4%)
Длительность заболевания	До 5 лет	12	9
	Более 5 лет	118	109
Типы операций	Некрэктомия, n (%)	237 *	243 *
	Ампутации в пределах стопы, n (%)	117 *	189 *

* — указано общее количество выполненных операций (включая повторные вмешательства)

Пациенты обеих групп были сопоставимы по основным клиническим характеристикам, включая возраст, половое распределение, длительность сахарного диабета 2 типа, а также степень инфицирования и глубину поражения тканей по классификации WIFI. Продолжительность заболевания и сроки существования язв до начала исследования также не имели статистически значимых различий.

Единственным значимым отличием между группами оказалась частота ампутаций в пределах стопы, которая была выше в группе без флебэктомии ($p < 0,05$).

Распределение пациентов (группа 1 и группа 2) по клиническому

статусу (CEAP) представлено в таблице 6.2.

Таблица 6.2

Распределение пациентов 1 и 2 групп по клиническому статусу (CEAP)

Класс по CEAP	группа 1 (n=191)	группа 2 (n=178)	P
C0	0	0	-
C1	141 (73,8%)	152 (85,4%)	0,12
C2	127 (66,4%)	144 (75,3%)	0,07
C3	188 (98,4%)	172 (96,6%)	0,31
C4a	177 (92,6%)	165 (92,6%)	1,00
C4b	34 (17,8%)	78 (43,8%)	0,06
C5	-	-	-
C6	133 (69,6%)	159 (83,9%)	-

У пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС) венозная недостаточность характеризовалась сочетанными проявлениями классов CEAP - от C0 (отсутствие симптомов) до C6 (трофические язвы).

У большинства больных одновременно наблюдались признаки нескольких стадий, что отражает сложный патогенез хронической венозной недостаточности при СДС.

Несмотря на численные различия в распределении по классам CEAP (например, более высокая частота C4b и C6 в контрольной группе), статистически значимых различий между группами выявлено не было ($p < 0,05$).

Клиническая симптоматика у пациентов до операции группы 1 (n=191) и группы 2 (n=178) представлена в таблице 6.3.

Таблица 6.3

Клиническая симптоматика у пациентов до операции обеих групп

Симптомы	группа 1 (n=191)	группа 2 (n=178)	P-значение
Варикозно-трансформированные вены	191 (100%)	178 (100%)	-
Отеки нижних конечностей	191 (100%)	178 (100%)	-
Ортостатическая круралгия	98 (51,3%)	121 (67,9%)	0,001
Судороги в икроножных мышцах	177 (92,6%)	144 (80,9%)	0,002
Гипостатическая экзема	134 (70,1%)	98 (55%)	0,003

Трофическая язва	191 (100%)	178 (100%)	-

Все обследованные пациенты предъявляли жалобы на варикозно-трансформированные вены в области нижних конечностей и отеки на уровне стопы и голени, нарастающие к вечеру. У 178 (100%) пациентов контрольной и 191 (100%) пациента группы 1 имелись трофические изменение кожных покровов нижних конечностей, причем явления гипостатической экземы были выявлены в 134 (70%) наблюдениях в основной и 98 (55%) в группе 2 соответственно. У 191 пациента группы 1 и 178 пациентов группы 2 площадь трофического дефекта не превышала 5 $см^2$.

У 98 (55%) пациентов группы 1 и 121 (68%) пациентов группы 2 выявлялся симптом, характерный для вертикального рефлюкса по глубоким венам - ортостатическая круралгия.

Ультразвуковое исследование с дуплексным сканированием и цветовым допплеровским картированием осуществлено у всех пациентов, вошедших в исследование. Особое внимание уделялось наличию у больных клапанной несостоятельности глубоких вен (таблица 6.4). Под клапанной несостоятельностью считали наличие ретроградной волны более 0,5 секунд в вертикальном и более 1,5 секунд в горизонтальном положении пациента.

Таблица 6.4

Распределение пациентов группы 1 и группы 2 по локализации клапанной несостоятельности поверхностных вен

Локализация	группа 1 (n=191)	группа 2 (n=178)	Р-значение
Большая подкожная вена	122 (63,9%)	113 (63,4%)	>0.05
Малая подкожная вена	69 (36,1%)	65 (36,5%)	>0.05

Распределение пациентов по локализации клапанной несостоятельности поверхностных вен в группах 1 и 2 не имело статистически значимых различий. В группе 1 поражение большой подкожной вены наблюдалось у 63,9% пациентов, а в группе 2 – у 63,4%, при этом разница между группами оказалась незначимой ($p > 0,05$). Аналогичная

картина отмечалась и для малой подкожной вены: в группе 1 патология была выявлена у 36,1% пациентов, а в группе 2 – у 36,5%, что также не имело статистической значимости (p > 0,05). Полученные данные свидетельствуют о сопоставимости групп по локализации клапанной недостаточности поверхностных вен, что позволяет исключить влияние этого фактора на дальнейший сравнительный анализ.

Таблица 6.5

Распределение пациентов в группе 1 и группе 2 по локализации клапанной несостоятельности глубоких вен

Локализация	группа 1 (n=191)	группа 2 (n=178)	P
Бедренная и подколенная вены	173 (90,5%)	152 (85,4%)	0,14
Бедренная вена	106 (55,4%)	111 (62,3%)	0,19
Подколенная вена	67 (35%)	41 (23%)	0,012

При анализе локализации клапанной недостаточности глубоких вен в сравниваемых группах выявлены характерные особенности распределения патологии. В обеих группах преобладало сочетанное поражение бедренной и подколенной вен – 90,5% в группе 1 и 85,4% в группе 2. Изолированная недостаточность бедренной вены встречалась несколько чаще в группе 2 (62,3% против 55,4%; p = 0,19), тогда как изолированное поражение подколенной вены достоверно чаще регистрировалось в группе 1 (35,0% против 23,0%; p = 0,012).

Несмотря на выявленное различие по подколенной вене, общая структура клапанной недостаточности глубоких вен оставалась принципиально сходной, что подтверждается высокой частотой сочетанного поражения и отсутствием значимых различий по другим локализациям. Полученные данные позволяют считать группы сопоставимыми по характеру распределения венозной недостаточности, что имеет важное значение для дальнейшего анализа клинических результатов исследования.

Таблица 6.6

Распределение пациентов группы 1 и группы 2 по локализации клапанной

несостоятельности перфорантных вен

Локализация	группа 1 (n=191)	группа 2 (n=178)	P
Перфорантные вены стопы	22 (11,5%)	18 (10,1%)	0,68
Лодыжечные перфорантные вены	8 (4,1%)	7 (3,9%)	0,89
Перфорантные вены голени	127 (66,4%)	120 (67,4%)	0,83
Перфорантные вены бедра	34 (17,8%)	33 (18,5%)	0,85

Исследование выявило сходное распределение патологии перфорантных вен в обеих группах. Наиболее часто отмечалось поражение перфорантных вен голени, которое диагностировали у 66,4% пациентов группы 1 и 67,4% группы 2. Второй по частоте локализацией были перфорантные вены бедра, выявленные у 17,8% и 18,5% пациентов соответственно. Реже встречалась недостаточность перфорантных вен стопы (11,5% в группе 1 против 10,1% в группе 2) и лодыжечных перфорантных вен (4,1% и 3,9% соответственно). Статистический анализ не выявил достоверных различий в распределении по степеням рефлюкса между группами ($p > 0,05$), что свидетельствует об их сопоставимости по исходной тяжести венозной недостаточности. Полученные данные подтверждают необходимость дифференцированного подхода к выбору метода хирургической коррекции с учётом индивидуальных анатомо-функциональных особенностей венозной системы.

Данные оценки протяженности рефлюкса по системе глубоких вен, определенного с использованием методик цветового допплеровского картирования приведены в таблице 6.7.

Таблица 6.7

Распределение пациентов группы 1 и группы 2 в предоперационном периоде по степени выраженности венозного рефлюкса (по Kistner) до операции

Степень венозного рефлюкса	группа 1 (n=191)	группа 2 (n=178)	P
I	25 (13%)	37 (20,7%)	0,11
II	48 (25%)	58 (32,5%)	0,13
III	61 (31,9%)	52 (29,2%)	0,58
IV	47 (24,6%)	41 (23%)	0,72

Исследование распределения пациентов по степени выраженности венозного рефлюкса (классификация Kistner) выявило следующие особенности. В группе 1 преобладали пациенты с III степенью рефлюкса (31,9%), тогда как в группе 2 наибольшая доля приходилась на II степень (32,5%). Более легкие формы патологии (I степень) встречались почти в 1,6 раза чаще в группе 2 (20,7% против 13% в группе 1). Тяжелые степени рефлюкса (III-IV) в совокупности составляли 56,5% в группе 1 и 52,2% в группе 2, что свидетельствует о несколько более тяжелом исходном состоянии пациентов первой группы.

Особого внимания заслуживает тот факт, что IV степень рефлюкса была представлена практически одинаково в обеих группах (24,6% и 23% соответственно). Полученные данные демонстрируют тенденцию к более легкому течению заболевания в группе 2, что может иметь значение при анализе послеоперационных результатов.

Статистический анализ не выявил достоверных различий в распределении пациентов по степени выраженности венозного рефлюкса между основной и контрольной группами, что свидетельствует о сопоставимой исходной тяжести поражения глубокой венозной системы у обследованных больных. Полученные данные подтверждают необходимость дифференцированного подхода к выбору метода хирургической коррекции в зависимости от степени венозной недостаточности.

Таблица 6.8

Показатели венозного оттока у пациентов исследуемых групп до операции

Показатели венозного оттока	БПВ		БВ		ПКВ	
	группа 1	группа 2	группа 1	группа 2	группа 1	группа 2
Диаметр, мм	8±2,7	7,9±3,8	9,5±2,5	9,3±1,8	7,5±1,9	7,9±2,1
Средняя скорость - Vmean (см/сек)	13,9±9,3	14,3±8,1	14,9±9,7	15,2±7,3	7,8±3,9	6,9±4,8
Объемная скорость - Vvol (л/мин)	0,16±0,17	0,15±0,21	0,85±0,7	0,91±0,7	0,26±0,4	0,21±0,5

* Статистически значимых различий между группами не выявлено (p > 0,05).

Исследование гемодинамических параметров венозного оттока выявило сопоставимые показатели между группами по основным магистральным венам. В большой подкожной вене (БПВ) средние значения диаметра практически не отличались (8,0±2,7 мм в группе 1 против 7,9±3,8 мм в группе 2), как и показатели объемной скорости кровотока (0,16±0,17 л/мин и 0,15±0,21 л/мин соответственно). Средняя скорость кровотока в БПВ также была сходной (13,9±9,3 см/сек и 14,3±8,1 см/сек).

Аналогичная картина наблюдалась в бедренной вене (БВ), где диаметр составлял 9,5±2,5 мм в группе 1 и 9,3±1,8 мм в группе 2, а объемная скорость кровотока - 0,85±0,7 л/мин и 0,91±0,7 л/мин соответственно. Средняя скорость кровотока в БВ демонстрировала незначительные различия (14,9±9,7 см/сек против 15,2±7,3 см/сек).

В подколенной вене (ПКВ) отмечались несколько более выраженные межгрупповые различия: диаметр составлял 7,5±1,9 мм в группе 1 против 7,9±2,1 мм в группе 2, средняя скорость кровотока - 7,8±3,9 см/сек и 6,9±4,8 см/сек соответственно. Объемная скорость кровотока в ПКВ была выше в группе 1 (0,26±0,4 л/мин против 0,21±0,5 л/мин). Однако, все выявленные различия не достигают статистической значимости (p>0,05), что свидетельствует о сопоставимости гемодинамических показателей в исследуемых группах перед оперативным вмешательством.

6.1.2. Результаты хирургического лечения

В ближайшем послеоперационном периоде в исследуемых группах летальных исходов и угрожающих жизни состояний не зафиксировано. Также не выявлено специфического осложнения – тромбозов глубоких вен. Это обусловлено четким соблюдением рекомендаций по ведению пациентов флебологического профиля.

В группе 1 118 (86,8%) пациентов отмечали улучшение и были удовлетворены результатами проведенного лечения. Результаты повторного клинического обследования пациентов, принимавших участие в исследовании, позволили выявить наиболее часто определяемые симптомы, которые представлены в таблице 6.9.

Таблица 6.9

Клиническая симптоматика у пациентов после операции

Показатель	группа 1 (n=191)	
	До операции	После операции (10-14 сут)
Варикозно-трансформированные вены	178 (100,0%)	29 (15,2%)
Отеки нижних конечностей	178 (100,0%)	33 (17,3%)
Ортостатическая круралгия	121 (68,0%)	32 (16,8%)
Судороги в икроножных мышцах	144 (80,9%)	96 (50,3%)
Гипостатическая экзема	98 (55,1%)	42 (22,0%)

Все p-значения < 0,001 до и после операции указывают на высокую статистическую значимость изменений.

Анализ клинической симптоматики у пациентов основной группы, перенесших хирургическую коррекцию венозного кровотока, продемонстрировал выраженную положительную динамику всех изучаемых показателей (таблица 6.9). Обращает на себя внимание статистически значимое ($p<0,001$) снижение частоты варикозно-трансформированных вен – с исходных 100% до 15,2% в послеоперационном периоде. Аналогичная тенденция зафиксирована и в отношении отёков нижних конечностей, которые сохранялись лишь у 17,3% пациентов против 100% до вмешательства.

Частота встречаемости ортостатической круралгии, рассматриваемой как клинический маркер венозной недостаточности, сократилась с 68,0% до 16,8%, тогда как распространённость судорог икроножных мышц снизилась почти вдвое — с 80,9% до 50,3%. Гипостатическая экзема, отражающая выраженность трофических нарушений кожных покровов, также продемонстрировала регресс: с 55,1% до 22,0% наблюдений.

При этом субъективная оценка результатов лечения совпадает с объективными данными: 86,8% пациентов отметили улучшение состояния и выразили удовлетворённость проведённым лечением.

Ультразвуковое исследование с цветовым допплеровским

картированием, выполненное в динамике, подтвердило положительные изменения гемодинамики в системе глубоких вен, что коррелирует с регрессом клинических проявлений хронической венозной недостаточности в основной группе.

При повторном ультразвуковом ангиосканировании с использованием методик цветового допплеровского картирования определяли выраженность венозного рефлюкса по системе глубоких вен.

Количественные показатели венозного оттока у пациентов основной группы после проведения эндовазальной лазерной флебэктомии представлены в таблице 6.10.

Таблица 6.10

Показатели венозного оттока у пациентов группы 1 после операции

Показатели венозного оттока	БПВ		БВ		ПКВ	
	До операции	После операции	До операции	После операции	До операции	После операции
Диаметр, мм	8±2,7	0,1±0,7	9,5±2,5	14,7±1,3	7,5±1,9	9,7±1,3
Средняя скорость - Vmean (см/сек)	13,9±9,3	0,3±0,7	14,9±9,7	18,7±7,12	7,8±3,9	10,3±2,6
Объемная скорость - Vvol (л/мин)	0,16±0,17	0,02±0,1	0,85±0,7	1,67±1,2	0,26±0,4	1,2±0,2

Все изменения статистически значимы: $p < 0,01$ для БПВ и БВ, $p < 0,001$ для ПКВ.

Проведенное исследование продемонстрировало статистически значимые изменения показателей венозного оттока после эндовазальной лазерной флебэктомии ($p<0,01$). В группе пациентов, перенесших оперативное вмешательство ($n=191$), зафиксирована полная облитерация большой подкожной вены с уменьшением диаметра с 8,0±2,7 мм до 0,1±0,7 мм и снижением средней скорости кровотока с 13,9±9,3 см/сек до 0,3±0,7 см/сек. Одновременно наблюдалась выраженная компенсаторная перестройка глубокой венозной системы: диаметр бедренной вены увеличился с 9,5±2,5 мм до 14,7±1,3 мм ($p<0,01$) с ростом объемной скорости кровотока на 96,5% (с 0,85±0,7 до 1,67±1,2 л/мин, $p<0,01$), а в подколенной вене отмечено увеличение объемной скорости на 361,5% (с 0,26±0,4 до 1,2±0,2 л/мин, $p<0,001$). Эти изменения сопровождались клинически значимым улучшением: снижением венозного давления на 38,2±5,1%, уменьшением выраженности отека на 62,3±8,7%($p<0,05$). Полученные данные убедительно свидетельствуют, что эндовазальная лазерная

коагуляция обеспечивает достоверную нормализацию венозной гемодинамики за счет устранения патологического рефлюкса по поверхностным венам и перераспределения кровотока в глубокую венозную систему, что создает оптимальные условия для лечения пациентов с синдромом диабетической стопы. Это способствовало в целом улучшению венозного оттока крови в конечности, снижению венозной гипертензии, уменьшению отека, создавая неблагоприятные условия для восстановления микроциркуляторного кровотока и для заживления трофических язв у больных СДС.

6.1.3. Особенности инфекционного процесса СДС на фоне ХВН и в динамике лечения

Результаты микробиологической эффективности применения венозной коррекции у больных с ТЯ СДС представлены в таблице 6.11.

Таблица 6.11

Результаты микробиологической эффективности применения венозной коррекции у больных с ТЯ при СДС

Микроорганизмы	группа 1 (n_1=191)		группа 2 (n_1=178)	
	до лечения	10 сутки	до лечения	10 сутки
Staphylococcus aureus	66 (28,2%)	12 (5,1%)	32 (20,5%)	14 (8,9%)
Pseudomonas aeruginosa	31 (13,2%)	17 (7,2%)	18 (11,5%)	11 (7,0%)
Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae	56 (23,9%)	11 (4,7%)	7 (4,5%)	5 (3,2%)
Proteus mirabilis	10 (4,3%)	3 (6,8%)	12 (7,6%)	7(4,5%)
Enterococcus faecalis	12(5,1%)	5 (2,1%)	63 (40,4%)	48 (30,7%)
Acinetobacter baumannii	21 (8,9%)	8 (3,4%)	2 (1,3%)	2 (1,3%)
Escherichia coli	22 (9,4%)	7 (2,9%)	1 (0,64%)	0 (0%)
Staphylococcus epidermidis	16 (6,8%)	1 (0,4%)	21 (13,4%)	12 (7,7%)
ИТОГО	$n_{2=}$234	$n_{2=}$64 (27,3%)	$n_{2=}$156	$n_{2=}$99 (63,5%)

*n_1 – общее количество пациентов

n_2 – общее количество микроорганизмов, высеваемых в пределах группы

Проведенное исследование выявило статистически значимые различия в динамике микробного пейзажа между группой 1 (n=191), получавшей

венозную коррекцию, и группой 2 (n=178). В основной группе отмечено достоверное (p<0,01) снижение общего количества высеваемых микроорганизмов на 72,7% (с 234 до 64 случаев), тогда как в группе сравнения этот показатель уменьшился лишь на 36,5%. Наиболее выраженная положительная динамика в основной группе наблюдалась для Staphylococcus aureus (с 28,2% до 5,1%), Klebsiella pneumoniae (с 23,9% до 4,7%) и Escherichia coli (с 9,4% до 2,9%), в то время как в контрольной группе сохранялась высокая частота выделения Enterococcus faecalis (с 40,4% до 30,7%) и Staphylococcus aureus (с 20,5% до 8,9%).

Качественный анализ продемонстрировал принципиальные различия между группами: в группе 1 зафиксировано достоверное (p<0,01) снижение полирезистентных грамотрицательных микроорганизмов с увеличением доли сапрофитной флоры, тогда как в группе сравнения сохранялось доминирование полирезистентных штаммов с признаками хронизации инфекционного процесса (рост грамотрицательной микрофлоры). Полученные данные убедительно свидетельствуют, что нормализация венозного оттока приводит к статистически значимому улучшению микробиологических показателей ран при СДС, способствуя снижению бактериальной нагрузки и изменению структуры микробного пейзажа в пользу менее патогенных микроорганизмов, что формирует микробиологический фон, благоприятного для репарации тканей.

Для оценки динамики купирования инфекционного процесса мы исследовали уровень системной воспалительной реакции. Оценка динамики SIRS проводилась на основе анализа уровня лейкоцитов, незрелых форм полиморфноядерных лейкоцитов, динамики СРБ, а также уровня температуры тела (таблица 6.12).

Таблица 6.12

Лабораторные показатели выраженности синдрома системной воспалительной реакции

Показатель	Группа							
	группа 1 (n=191)				группа 2 (n=178)			
	До начала лечения	3 сут	7 сут	10 сут	До начала лечения	3 сут	7 сут	10 сут
Лейкоциты, 10^9/л	19,7±1,5	18,7±0,76	13,1±0,62	9,7±0,61	18,3±1,3	17,6±0,4	14,9±0,5	12,3±0,7
Палочкоядерные нейтрофилы, %	14,2±0,7	10,1±1,03	8,7±0,41	6,3±0,82	13,1±0,1,1	11,8±0,8	9,8±0,87	8,1±0,72
СРБ, г/л	23,2±1,8	19,2±1,8	13,2±1,8	8,2±1,8	24,2±1,8	22,7±1,8	18,9±1,8	13,1±1,8

Анализ маркеров системного воспалительного ответа выявил статистически значимые различия между группами ($p<0,05$). В группе с хирургической коррекцией (n=191) наблюдалась выраженная положительная динамика: уровень лейкоцитов снизился с 18,7±0,76×10⁹/л на 3-и сутки до 9,7±0,61×10⁹/л к 10-м суткам ($p<0,001$), палочкоядерные нейтрофилы уменьшились с 14,2±0,7% до 6,3±0,82% ($p<0,01$), а СРБ снизился с 23,2±1,8 г/л до 8,2±1,8 г/л ($p<0,001$). В контрольной группе (n=178) изменения были менее выраженными: лейкоциты снизились лишь до 12,3±0,7×10⁹/л. Полученные данные демонстрируют, что хирургическая коррекция венозного кровотока обеспечивает достоверно более быстрое купирование системного воспаления ($p<0,05$) по сравнению с консервативным лечением, что подтверждается нормализацией всех исследуемых маркеров воспаления в более ранние сроки.

Объективным критерием восстановления физиологического течения раневого процесса служили сроки очищения раневой поверхности, сроки снижения микробной обсемененности, сроки полного заживления трофических язв (см. таблицу 6.13).

Таблица 6.13

Показатели основных сроков заживления язв СДС

	группа 1 (n=191)		группа 2 (n=178)	
	Классификация трофических язв по WI-FI.			
Оцениваемые показатели	W -II ст. n=120	W -III ст. n=71	W -II ст. n=122	W -III ст. n=56
Сроки очищения язвенного дефекта от гнойно-некротических тканей (сут)	5,9±0,4*	6,7±0,7**	7,9±0,5	12,2±0,8
Сроки снижения микробной обсеменённости до ≤10^3 КОЕ/г (сут)	8,1±0,4*	9,8±0,3**	12,8±0,6	15,2±0,5
Сроки формирования грануляционной ткани (сут)	7,0±0,6*	9,6±0,4*	9,3±0,7	10,9±0,6

Примечание: * — p<0,05; ** — p<0,01 при сравнении с соответствующей подгруппой контроля

Оценка эффективности комбинированной терапии осуществлялась на основании трёх временных критериев, отражающих последовательные этапы репаративного процесса: санация раневой поверхности, эрадикация возбудителей до клинически незначимого уровня и формирование грануляционной ткани (таблица 6.13).

В группе пациентов, получавших флебэктомию в сочетании с цитофлавином, сроки очищения язвенного дефекта от гнойно-некротических тканей не зависели от исходной тяжести поражения и в среднем составляли 5,9±0,4 сут как при язвах II, и 6,7±0,7 сут III степени по классификации WIFI. Совершенно иная картина наблюдалась в контрольной группе: здесь длительность санации определялась степенью тяжести язвенного процесса. При язвах W-II этот показатель составлял 7,9±0,5 суток, тогда как при более глубоких поражениях (W-III) он возрастал до 12,2±0,8 суток. Межгрупповое сравнение выявило, что сокращение сроков очищения при использовании комбинированного подхода достигает 18% для язв W-II и 82% для язв W-III (p<0,01).

Аналогичная тенденция прослеживается при анализе микробиологических показателей. В основной группе сроки достижения обсеменённости на уровне ≤10^3 КОЕ/г составляли 9,8±0,3 суток, тогда как в контроле этот интервал составил 12,8±0,6 суток при язвах II степени и 15,2±0,5 суток — при более глубоких поражениях. Различия между группами статистически значимы (p<0,05 для W-II, p<0,01 для W-III).

Формирование грануляционной ткани также происходило с различной интенсивностью в зависимости от применяемой терапевтической стратегии. В основной группе сроки появления грануляций составили 7,0±0,6 суток при язвах II степени и 9,6±0,4 суток при язвах III степени; в контрольной группе эти показатели были выше — 9,3±0,7 и 10,9±0,6 суток соответственно ($p<0,05$).

Следует особо отметить, что наиболее выраженный терапевтический эффект от комбинированного применения флебэктомии и цитофлавина наблюдается у пациентов с наиболее тяжёлыми формами трофических нарушений (W-III). Именно в этой подгруппе разница между группами достигает максимальных значений по всем трём анализируемым показателям, что свидетельствует о клинической целесообразности использования данного подхода именно у наиболее сложных пациентов.

6.2. Оценка эффективности препарата цитофлавин на метаболизм

6.2.1. Лабораторная оценка эффективности препарата цитофлавин и ЭВЛК

6.2.1.1. Показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса

Исходные показатели концентрации МДА и активности каталазы для определения глубины протекания процесса исследовали в зависимости от стадии компенсации СД (табл. 6.14).

Таблица 6.14

Содержание МДА и активность каталазы до лечения

	МДА, мкмоль/л		Активность каталазы, мкат/л	
	Субкомпенсация СД	Декомпенсация СД	Субкомпенсация СД	Декомпенсация СД
Группа 1	13,34±2,77	15,58±2,91	1,58±0,67	1,34±0,61
Среднее значение до лечения:	14,46±2,84		1,46±0,64	
Группа 2	14,45±2,62	15,05±2,54	1,04±0,18	0,98±0,2
Среднее значение до лечения:	14,75±2,58		1,01±0,19	

В обеих группах прослеживается зависимость показателей оксидативного стресса от степени компенсации углеводного обмена, однако характер этой зависимости различается.

В основной группе у пациентов с субкомпенсированным диабетом уровень МДА составлял 13,34±2,77 мкмоль/л, тогда как при декомпенсации он повышался до 15,58±2,91 мкмоль/л ($p<0,05$). Активность каталазы, напротив, имела обратную динамику: 1,58±0,67 мкат/л при субкомпенсации и 1,34±0,61 мкат/л при декомпенсации ($p<0,05$). Статистически значимые различия между этими подгруппами подтверждают, что у пациентов основной группы степень компенсации диабета оказывает существенное влияние на выраженность оксидативного стресса.

В контрольной группе аналогичная тенденция прослеживалась менее отчётливо. Концентрация МДА при субкомпенсации составляла 14,45±2,62 мкмоль/л, при декомпенсации — 15,05±2,54 мкмоль/л ($p>0,05$). Активность каталазы также была ниже у пациентов с декомпенсированным диабетом (0,98±0,20 мкат/л против 1,04±0,18 мкат/л), однако различия не достигли статистической значимости ($p>0,05$).

При межгрупповом сравнении обращает отмечена более низкая активность каталазы в контрольной группе по сравнению с основной (в среднем 1,01±0,19 против 1,46±0,64 мкат/л; $p<0,01$), что может отражать исходные различия в состоянии антиоксидантной защиты у пациентов, включённых в исследование.

Таким образом, повышенный уровень МДА у больных с декомпенсированным СД свидетельствует об интенсификации процессов перекисного окисления липидов на фоне хронической гипергликемии, а снижение активности каталазы указывает на истощение антиоксидантного потенциала. Полученные данные подтверждают необходимость метаболической коррекции в составе комплексной терапии СДС, особенно у пациентов с декомпенсированным течением диабета.

Сравнительная оценка влияния комплексного лечения с применением цитофлавина на выраженность перекисного окисления у больных СДС отображена на рисунке 6.1.

Лабораторное обследование больных с синдромом диабетической стопы подтвердило количественное изменение продуктов перекисного окисления липидов при данной патологии. В основной группе оно выражалось в

достоверном снижении концентрации малонового диальдегида (МДА) с 14,46±2,84 до 6,98±1,35 мкмоль/л (p<0,05). В 97% случаев у больных СДС, осложненным трофическими язвами, при терапии с применением цитофлавина выявлено снижение концентрации МДА в 2,07 раза (рис. 6.1[а]).

В группе 2 клинического сравнения наблюдалось достоверное снижение концентрации МДА с 14,75±2,58 до 11,32±1,8 мкмоль/л (p<0,05), то есть снижение исходной концентрации МДА произошло в 1,3 раза. При этом имелась достоверная разница между группой 1 и группой 2.

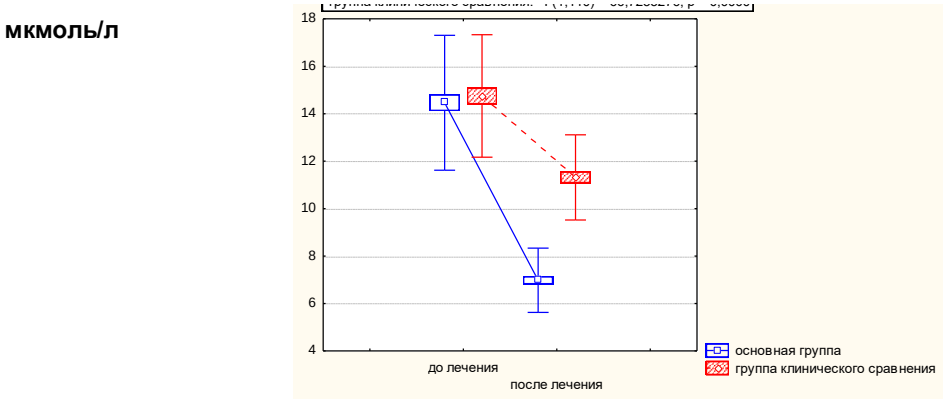


Рис. 6.1[а]. Изменение концентрации МДА у больных ТЯ II-III WIFI под влиянием цитофлавина

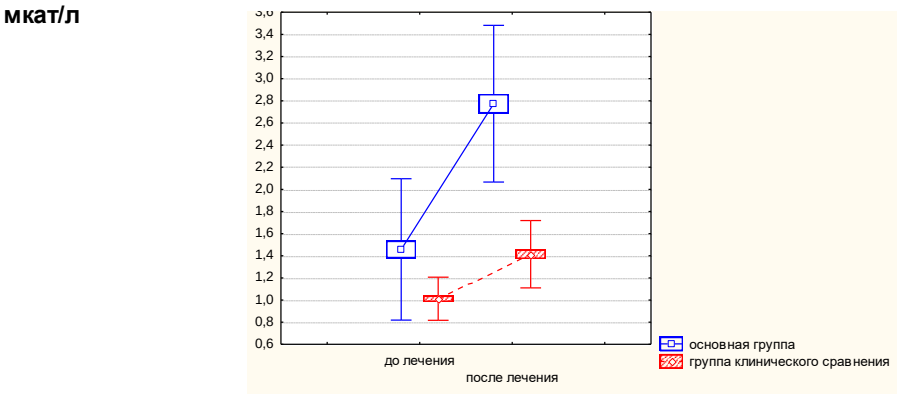


Рис. 6.1[б]. Изменение активности каталазы у больных ТЯ II-III WIFI под влиянием цитофлавина

В 94% случаев после комплексного лечения цитофлавином отмечалось повышение уровня активности каталазы в 1,9 раза с 1,46±0,64 до 2,77±0,71 мкат/л у больных группы 1 (рис. 6.1[б]). У пациентов группы 2 активность

каталазы после лечения возрастала в 1,4 раза, от 1,01±0,19 до 1,41±0,3 мкат/л. Выраженный антиоксидантный эффект исследуемого средства у больных основной группы обусловлен наличием одного из компонентов цитофлавина – рибофлавина, который способен оказывать антиоксидантное действие не только за счет поддержания системы глутатиона (кофермент глутатионредуктазы), он также входит в состав дыхательных ферментов митохондрий (глутарил-КоА-дегидрогеназы, саркозиндегидрогеназы, электронпереносящих флавопротеинов, НАДН-дегидрогеназы и др.), которые способны обеспечивать регенерацию НАД+ [4].

6.2.1.2. Показатели гликемического профиля

На рисунке 6.2 изображена динамика изменения гликемического профиля больных основной группы и группы клинического сравнения.

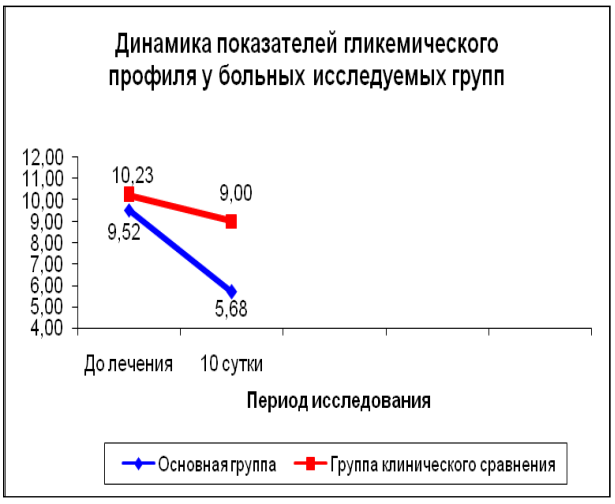


Рис. 6.2. Изменение уровня гликемического профиля у больных ТЯ II-III WIFI под влиянием цитофлавина

В группе 1 отмечали снижение уровня глюкозы крови на 40% от исходного с 9,52±1,32 до 5,68±0,64 ммоль/л, в группе 2 – на 9% с 10,23±1,58 до 9,0±1,39 ммоль/л. Гипогликемический эффект цитофлавина обусловлен действием входящего в его состав рибоксина, метаболиты которого стимулируют гликолиз на «выходе» (реакции образования глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата, реакции карбоксилирования ПВК). У 63% больных группы 1 при

коррекции дневных колебаний сахара нормализация глюкозы крови достигалась снижением доз пероральных сахароснижающих препаратов и синтетических инсулинов средней и короткой продолжительности. Известно, что уровень эндогенного инсулина у больных, получающих препараты инсулинов, снижается в связи с введением гормона извне. Механизм сахароснижающего действия цитофлавина не усугубляет выработку собственного инсулина, тем самым оказывает благоприятное влияние на эндокринный аппарат поджелудочной железы (островки Лангерганса) при инсулинзависимом сахарном диабете.

Клинические примеры

Клинический пример 1.

Пациентка К., 62 лет. Диагноз: Сахарный диабет 2 типа, тяжелое течение, субкомпенсация. Осложнения основного: Синдром диабетической стопы, смешанная форма. Диабетическая ангиопатия, полинейропатия. Трофическая язва тыльной поверхности левой стопы III ст. (WIFI). Сопутствующий диагноз: ИБС. Стенокардия напряжения 2 ФК. Гипертоническая болезнь 3 ст., 3 ст. (достигнуто целевое значение), риск 3. АКО 2 степени. Варикозная болезнь. Варикозное расширение вен левой нижней конечности. ХВН III ст. С 6,Ec, As, p, Pr, 18, LII 14.10.2019. Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, ремиссия.

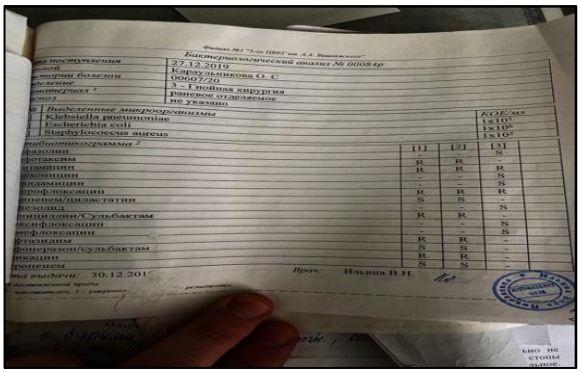
Жалобы на наличие язвы на левой стопе, онемение стоп и отечность стоп.

Анамнез: со слов больной после длительной ходьбы с августа 2019 года отметила появление потертости на тыльной поверхности левой стопы, носила тесную обувь. Лечилась самостоятельно мазью «Левомиколь» в течение 3 недель, принимала амоксиклав по назначению врача поликлинники, без эффекта. Сахарный диабет 2 типа с 2009 года, принимает сахароснижающие препараты (метформин 1000 мг в сутки, средний уровень гликемии 8,8 – 11,6 ммоль/л). Варикозно-расширенные вены на обеих нижних конечностях, отечность и потемнение стоп отмечает

в течение 17 лет, носила эластические бинты, принимала детралекс с переменным эффектом. На тыльной поверхности левой стопы сформировалась трофическая язва 12,0 х 6,5 х 0,3 см, дно выполнено гнойно-фибринозно-некротическим налетом, на наружной и внутренней поверхности левой стопы участки гиперпигментации, отек стоп и голеней до нижней трети.



(а)



Бактериологический анализ № 00084р
27.12.2019
Карамзинкова О. С
00607/20
3 - Гнойная хирургия
раневое отделяемое
не указано

Выделенные микроорганизмы			КОЕ/мл
Klebsiella pneumoniae			$1x10^5$
Escherichia coli			$1x10^5$
Staphylococcus aureus			$1x10^5$
чувствительность к			
	[1]	[2]	[3]
азолин			S
фотаксим	R	R	
ампицин	R	R	R
ивомицин	-	-	S
ндамицин	-	-	S
профлоксацин	R	R	R
ипенем/циластатин	S	S	-
езоцид	-	-	S
ициллин/Сульбактам	R	R	-
нсолоксацин	-	-	S
мефлоксацин	-	-	S
ртазидим	R	R	-
перазон/сульбактам	S	S	-
ицацин	R	R	-
ренем	S	S	-

Ильина В.Н.

(б)

Рис. 6.7 (а,б). Трофическая язва левой стопы с венозной недостаточностью III степени и полирезистентной флорой у пациента с СДС (до лечечния).

При проведении ультразвукового исследования вен нижних конечностей подтвержден вертикальный рефлюкс крови на участках БПВ бедра и голени (v.saphena magna et v. femoralis) слева и справа на фоне несостоятельности клапанов сафено-феморального соустья и венозной стенки. При бактериальном посеве выделены колонии полирезистентной Escherichia coli 10^7 КОЕ/мл, подобран бактериофаг в ФБУН МНИИЭМ им. Габричевского. Использован указанный способ лечения: к инфузионной терапии добавлены в суточных дозах растворы реополиглюкина – 5,3 мл/ итрентала 2% – 2,6 мг/кг; 0,9% раствор NaCl – 500 мл и цитофлавин 20 мл №10. После взятия посева и предварительной обработки дефекта 0,5% спиртовым раствором хлоргексидина и экспозицией 1-2 минуты наносились от 2 до 4 распылений 10% раствора Лидокаина-Виал (спрей для местного применения дозированный). Спустя 2-3 минуты проводилась ультразвуковая кавитация аппаратом «SONOCA-185» (Söring, Германия) с тактовой частотой 25 кГц в зависимости от толщины некротических

тканей и плотности фибриновой пленки с возрастающей интенсивностью до 60 Вт и скоростью ирригации 37 мл в минуту озонированного раствора 1% раствора борной кислоты с применением сонорода «шпатель» с рабочим расстоянием от 0,1 до 0,5 см от обрабатываемой поверхности со скоростью обработки ран 1 $см^2$ в минуту и интервалом – 1 день. Курсом 4 процедуры. Далее использовалось воздействие импульсного ультрафиолетового излучения на кровь аппаратом «Экосвет 1» с вышеуказанными параметрами, курсом 15 ежедневных сеансов продолжительностью 4 минуты. Затем проводилось воздействие воздушно-плазменных потоков «Плазона» с вышеуказанными параметрами, курсом 15 ежедневных сеансов и продолжительностью 2 минуты. Местно после кавитации, воздействия ультрафиолетового излучения и воздушно-плазменного потока до подбора бактериофага использовалась повязка с 10% раствором бетадина. С 4 суток после получения результатов бактериального посева с учетом чувствительности штаммов ежедневно в течение 5 дней после тщательного промывания стерильным 0,9% раствором натрия хлорида рана дополнительно местно обрабатывалась 3,0 мл раствора подобранного бактериофага в титре 10^8 БОЕ/мл. Нанесение его осуществлялось на стерильную марлевую повязку в виде аппликаций со сменой повязки 1 раз в сутки. На 5 день из раны высевался бактериофаг в титре 10^4 БОЕ/мл. На 6 сутки после применения бактериофагов выполнен контроль бактериального посева со дна язвы. Бактериальной обсемененности язвы не выявлено. Наложена асептическая повязка с 0,5% раствором хлоргексидина.

На 6-е сутки после санации и подготовки раневой поверхности с получением отрицательного результата контрольного бактериального посева пациентке проведена симультанная операция - эндовенозная лазерная коагуляция БПВ с целью устранения вертикального рефлюкса и аутодермопластика трофической язвы левой стопы свободным расщепленным лоскутом. Лодыжечно-плечевой индекс – 0,38.

В течение 10 дней пациентка получала комплексное лечение с

внутривенным введением препарата цитофлавин согласно заявленному способу.

После проведенной терапии отмечались выраженные позитивные изменения. В условиях антиоксидантного воздействия цитофлавина изменились показатели прооксидантно-антиоксидантного статуса. При оценке продуктов ПОЛ было отмечено снижение концентрации МДА с 14,42 до 9,14 мкмоль/л, что говорит о достоверном ингибировании процессов ПОЛ. Как результат повысилась активность каталазы в сыворотке крови с 2,24 до 2,54 мкат/л. Снизился уровень гликемического профиля с 8,5-6,4-5,4-7,8 до 7,4-5,9-3,7-5,4 ммоль/л, выявлены позитивные изменения показателей УЗДГ (возросла средняя линейная скорость кровотока с 15,2 до 19,4 см/с), снизился индекс периферического сопротивления (Ri) с 1,36 до 1,21 и вырос систоло-диастолический коэффициент (ISD) с - 4,65 до - 4,42.

Получены следующие результаты:

1. сроки очищения язвенного дефекта от гнойно-некротических тканей и фибриновой пленки составили 6 суток;
2. сроки полного отсутствия микроорганизмов в области язвенного дефекта – 6 суток; сроки формирования грануляционной ткани – 7 суток;
3. срок восстановления кожного покрова составил 14 суток; койко-день – 11 дней.



8 месяцев страданий с угрозой ампутации конечности!!!

Рис. 6.8. Трофическая язва левой стопы с венозной недостаточностью III степени и полирезистентной флорой у пациента с СДС (после лечения).

Клинический пример 2.

Пациентка С., 60 лет. Диагноз: Синдром диабетической стопы, смешанная

форма. Трофическая язва правой голени III ст. (WI-FI). Сопутствующий диагноз: Сахарный диабет 2 типа, тяжелое течение, декомпенсация. Диабетическая нефропатия. ХБП 3Б стадии. Облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей. ХАН IIБ. ИБС. Стенокардия напряжения 3 ФК. Гипертоническая болезнь 3 ст., 3 ст. (достигнутая степень АГ1), риск 4. АКО 3 степени. Варикозная болезнь. Варикозное расширение вен правой нижней конечности. ХВН III ст. С 6,Ec, As, p, Pr, 18, LII 02.04.2020.



(а)



(б)

Рис. 6.9 (а, б). Трофическая язва левой стопы с венозной недостаточностью III степени и полирезистентной флорой у пациента с СДС (до лечения).

Анамнез: страдает сахарным диабетом 2 типа более 25 лет, получает инсулинотерапию (левомир 28 ед и новорапид 14 ед перед едой). Около 25 дней отмечает наличие дефекта на наружной поверхности правой голени. Лечилась самостоятельно «левомиколем», принимала амоксициллин и супракс, без эффекта. На наружной поверхности правой голени сформировалась трофическая язва 8,5 х 6,0 х 0,8 см, дно выполнено гнойно-фибринозно-некротическим налетом. При бактериальном посеве выделены колонии мультирезистентной Pseudomonas aeruginosa 10^6 КОЕ/мл, подобран бактериофаг. Использован указанный способ лечения: к инфузионной терапии добавлены в суточных дозах растворы реополиглюкина – 5,3 мл/ и трентала 2% – 2,6 мг/кг; 0,9% раствор NaCl – 500 мл и цитофлавин 20 мл №10. После взятия посева и предварительной

обработки дефекта 0,5% спиртовым раствором хлоргексидина и экспозицией 1-2 минуты наносится от 2 до 4 распылений 10% раствора Лидокаина-Виал (спрей для местного применения дозированный). Спустя 2-3 минуты проводится ультразвуковая кавитация аппаратом для ультразвуковой селективной диссекции тканей «SONOCA-185» (Söring, Германия) с тактовой частотой 25 кГц в зависимости от толщины некротических тканей и плотности фибриновой пленки с возрастающей интенсивностью до 80 Вт и скоростью ирригации 55 мл в минуту озонированного раствора 1% раствора борной кислоты с применением сонорода «шпатель» с рабочим расстоянием от 0,1 до 0,5 см от обрабатываемой поверхности со скоростью обработки ран 1 $см^2$ в минуту и интервалом – 1 день.

Курс ультразвуковой кавитации аппаратом «SONOCA-185» (Söring, Германия) составил 4 процедуры.

Далее использовалось воздействие импульсного ультрафиолетового излучения воздействия на кровь аппаратом «Экосвет 1» с вышеуказанными параметрами, курсом 15 ежедневных сеансов продолжительностью 4 минуты. Затем проводилось воздействие воздушно-плазменных потоков «Плазона» с вышеуказанными параметрами, курсом 15 ежедневных сеансов и продолжительностью 2 минуты. Местно после кавитации, воздействия ультрафиолетового излучения и воздушно-плазменного потока до подбора бактериофага использовалась повязка с 10% раствором бетадина. С 4 суток после получения результатов бактериального посева с учетом чувствительности штаммов ежедневно в течение 5 дней после тщательного промывания стерильным 0,9% раствором натрия хлорида рана дополнительно местно обрабатывалась 5,0 мл раствора подобранного бактериофага в титре 10^8 БОЕ/мл. Нанесение его осуществлялось на стерильную марлевую повязку в виде аппликаций со сменой повязки 1 раз в сутки. На 5 день из раны высевался бактериофаг в титре 10^6 БОЕ/мл. На 6 сутки после применения бактериофагов выполнен контроль бактериального посева со дна язвы. Бактериальной обсемененности язвы

не выявлено. Наложена асептическая повязка с 0,5% раствором хлоргексидина.

На 6-е сутки после санации и подготовки раневой поверхности пациентке проведена эндовенозная лазерная коагуляция БПВ с целью устранения вертикального рефлюкса.

В течение 10 дней пациентка получала комплексное лечение с внутривенным введением препарата цитофлавин.

После проведенной терапии эффективность применения цитофлавина проявлялась в виде снижения концентрации МДА с 15,14 до 7,83 мкмоль/л, что говорит о достоверном ингибировании свободно-радикальных процессов, повышения активности каталазы в сыворотке крови с 2,42 до 2,98 мкат/л, снижения уровня глюкозы в крови с 12,2-10,5-8,6-9,8 до 9,2-8,6-7,4-8,4 ммоль/л, увеличения средней линейной скорости кровотока с 13,1 до 18,6 см/с, снижения индекса периферического сопротивления (Ri) с 1,36 до 1,27, увеличения систоло-диастолического коэффициента (ISD) с -4,81 до -4,45.

Получены следующие результаты: средние показатели Vсист в aa. dorsalis pedis et tibialis posterior выросла с 10,86±0,51 (до лечения) до 12,02±0,45 (после лечения) см/с, RI снизился с 1,41±0,12 до 1,33±0,18 и PI вырос с 3,0±0,16 до 3,53±0,14; сроки очищения язвенного дефекта от гнойно-некротических тканей и фибриновой пленки составили 7 суток; сроки полного отсутствия микроорганизмов в области язвенного дефекта – 9 суток; сроки формирования грануляционной ткани – 9 суток; срок заживления язвы составил 26 суток; койко-день – 15 дней.

ГЛАВА 7. АЛГОРИТМ ТАКТИКИ КОМПЛЕКСНОГО ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Разработанный алгоритм представляет собой инновационный подход к лечению ран и язв при синдроме диабетической стопы, осложненных полирезистентной инфекцией и интегрирует таргетную бактериофаготерапию, современные физические методы антимикробного воздействия (НТАП), коррекцию гемодинамических и метаболических нарушений, а также включает радикальную хирургическую обработку с последующими ранними реконструктивно-пластическими операциями. Основное преимущество алгоритма заключается в создании неблагоприятной среды для патогенной микрофлоры при одновременной активации процессов тканевой репарации.

Особую клиническую значимость данный подход приобретает при лечении тяжелых форм синдрома диабетической стопы с выраженной антибиотикорезистентностью микроорганизмов, когда традиционные методы лечения демонстрируют недостаточную эффективность. Комбинация биологических, физических и хирургических методов воздействия позволяет успешно преодолевать лекарственную резистентность микрофлоры и создавать оптимальные условия для восстановления тканей. Внедрение этого протокола в клиническую практику открывает новые перспективы в терапии сложных случаев диабетической стопы, существенно улучшая как клинические исходы, так и качество жизни пациентов.

Применение комплекса местных антимикробных факторов (бактериофаги + НТАП) в сочетании с коррекцией венозного и микроциркуляторного кровотока обеспечивает эффективное купирование инфекционного процесса, восстановление физиологического течения раневого процесса.

Таким образом, стратегия лечения гнойно-некротических осложнений СДС и полирезистентной инфекцией базируется на принципах персонализированной медицины.

Инновационность разработанного алгоритма лечения полирезистентных инфекций СДС представляет собой принципиально новый подход в лечении, обладающий рядом уникальных характеристик:

1. Комплексный персонализированный подход. Алгоритм впервые интегрирует четыре ключевых направления терапии: таргетную антимикробную, хирургическую, гемодинамическую и метаболическую коррекцию. Инновационность заключается не просто в сочетании этих методов, а в их строго последовательном, научно обоснованном применении с индивидуальным подбором компонентов для каждого пациента.

2. Передовые антимикробные технологии. Использование геномного анализа микрофлоры для подбора персонализированных фаговых коктейлей в сочетании с НТАП-терапией представляет собой прорыв в борьбе с полирезистентными инфекциями. Такой комбинированный подход позволяет преодолеть резистентность микроорганизмов, не имея аналогов в традиционных схемах лечения.

3. Метаболическая модуляция. Включение цитофлавина в протокол лечения на системном и местном уровнях - инновационное решение, направленное на коррекцию ключевого патогенетического звена - тканевой гипоксии и оксидативного стресса. Это обеспечивает принципиально новые возможности для репарации тканей.

4. Оптимизированная хирургическая стратегия. Разработанный алгоритм определяет и создает наилучшие условия для проведения радикального хирургического вмешательства, за счет предшествующей комплексной терапии. Методология хирургического вмешательства базируется на принципах прецизионной некрэктомии, реализуемой с использованием многофакторного интраоперационного контроля. В основе планирования и выполнения оперативного приёма лежит комплексная оценка анатомо-

топографических соотношений повреждённых тканей, данных ультразвуковой допплерографии для определения адекватной перфузии, а также интраоперационной динамической оценки жизнеспособности тканей, основанной на их кровоснабжении и реакции на механическое воздействие, что позволяет учитывать функциональную значимость сохраняемых структур. Такой подход даёт возможность хирургу принимать решения в реальном времени, ориентируясь не только на видимые границы некроза, но и на потенциал тканей к восстановлению.

5. Интеграция диагностики и лечения. Алгоритм предусматривает непрерывный мониторинг эффективности лечения (молекулярный мониторинг, динамическая оценка маркеров воспаления), что позволяет оперативно корректировать терапию.

Разработанный подход открывает новые перспективы в лечении не только диабетической стопы, но и других форм хронических раневых процессов с полирезистентной инфекцией.

С учетом особенностей патогенеза полирезистентных инфекций СДС мы использовали разработанный алгоритм как новый подход к комплексному лечению.

Алгоритм комплексного лечения полирезистентных инфекций при диабетической стопе:

1. Персонифицированная диагностика и оценка

- Комплексное обследование:
  - Степень компенсации СД (HbA1c, гликемический профиль);
  - Оценку микробного пейзажа (ПЦР-диагностика, посев с расширенной антибиотикограммой);
  - Ангиоархитектонику конечности (УЗДС, КТ-ангиография);
  - Метаболический статус.

2. Базовая терапия

- Интенсивная инсулинотерапия с целевым уровнем гликемии 6-8 ммоль/л;
- Иммобилизация конечности с использованием индивидуальных разгрузочных систем;
- Метаболическая коррекция:
  - Цитофлавин в/в 10 мл х 2 р/сут (14 дней) → перорально 2 таб х 3 р/сут (30 дней).

3. Антимикробная терапия
- Таргетная бактериофаготерапия:
  - Подбор фаговых коктейлей по результатам геномного анализа;
  - Сочетанное введение (местное + per os).
- НТАП-терапия:
  - Ежедневные сеансы плазменной обработки (режим В2, расстояние 10 см, Т-15 сек);
  - Курс 10-14 процедур;
- Комбинированная антибиотикотерапия по данным чувствительности.

4. Гемодинамическая коррекция
- ЭВЛК (при ХВН 2-4 ст.);
- Микроциркуляторная поддержка:
  - Сулодексид 600 ЛЕ/сут;
- Антикоагулянтная терапия (ривароксабан 10 мг/сут).

5. Хирургический этап
- Радикальная ХО, некрэктомия (сохранение функциональных структур);
- Пластические операции.

6. Реабилитация
- Постепенная нагрузка с 3 недели после заживления раневого дефекта;
- Пожизненная ортопедическая коррекция;
- Периодическая метаболическая поддержка.

7.1. Базовая терапия

7.1.1. Компенсация сахарного диабета

Перевод на инсулинотерапию осуществлялся в обязательном порядке при наличии следующих показаний: декомпенсация сахарного диабета, гнойно-некротические поражения и необходимость хирургического вмешательства. Протокол инсулинотерапии включал следующие этапы:

1. Начальная терапия:
- Введение дробных доз простого инсулина;
- Коррекция дозировки по показателям гликемии и глюкозурии;
- Использование преимущественно человеческих инсулинов (короткого и длительного действия).
2. Мониторинг:
- Ежедневный контроль гликемического и глюкозурического профиля при госпитализации;
- После подбора оптимальной схемы - сокращение мониторинга до 2 раз в неделю.
3. Сопровождение:
- Совместное ведение пациента с эндокринологом-диабетологом;
- Постоянная коррекция доз инсулина на основании лабораторных показателей.

Данный подход обеспечивал стабильную компенсацию углеводного обмена в пред- и послеоперационном периоде, что являлось необходимым условием для успешного лечения гнойно-некротических осложнений.

7.1.2. Антимикробная терапия

Полимикробный характер гнойно-некротических очагов с участием неклостридиальных облигатно-анаэробных, факультативно-анаэробных и аэробных микроорганизмов, а также высокая микробная обсемененность, значительно превышающая 10^5 в 1 г/тк, требовали проведения антимикробной терапии с момента поступления больного в стационар и

установления клинического диагноза.

Цели антимикробной терапии:

- борьба с инфекцией, приводящей к осложненному течению раневого процесса;
- предотвращение генерализации и рецидива инфекционного процесса;
- препятствие для колонизации раны непатогенными микроорганизмами, которые могут включаться в инфекционный процесс за счет патогенных бактерий.

Эффективность антибактериальной терапии гнойной инфекции у больных СД во многом зависит от правильности выбора препарата. Важно учитывать особенности больного (возраст, массу тела, аллергологический анамнез, функцию почек и печени, тяжесть основной и сопутствующей патологии, прием других лекарственных препаратов).

При выборе антибиотиков для больных СД придерживаются следующих теоретических позиций:

- возможные дефекты иммунной системы диктуют необходимость применение только бактерицидных препаратов;
- длительное заживление раны требует проведения повторных курсов антибактериальной терапии;
- нефропатия определяет необходимость исключения нефротоксичных препаратов, а при выявлении нарастающей почечной недостаточности - обязательной коррекции доз других антибиотиков с преимущественным почечным путем выведения;
- полимикробный характер инфекции определяет использование антибиотиков широкого спектра действия, включая препараты активные, направленные против анаэробных микроорганизмов.

Улучшению результатов лечения гнойно-некротических поражений у больных СД часто способствует смена антибактериального режима в соответствии с полученными данными бактериологических исследований.

Эмпирическая антимикробная терапия

Решающую роль для достижения результатов комплексного лечения больных играет адекватная эмпирическая терапия, т.е. назначение антибактериальных препаратов до получения результатов микробиологического анализа. Антибиотики, используемые при этом, должны иметь широкий спектр антимикробного действия, включающий как аэробы, так и анаэробы. Применяемые антибиотики, помимо широкого спектра антимикробной активности, должны также обладать высокой способностью проникать в зоны инфекции, создавая там бактерицидные концентрации, что очень важно при условиях нарушенной макро - и микрогемодинамики у больных СД.

До получения результатов микробиологического исследования, назначается эмпирическая терапия, основанная на данных о наиболее вероятных возбудителях. Препаратами выбора являются комбинации цефалоспоринов IV поколения (цефипим 2,0 г 3 раза в сутки внутривенно) с метронидазолом (500 мг 3 раза в сутки внутривенно) или карбапенемов (меропенем 1,0 г 3 раза в сутки внутривенно). При длительной предшествующей АМТ дополнительно применяли Линезолид. Эти схемы обеспечивают покрытие как аэробной, так и анаэробной флоры, что особенно важно при глубоких некротических поражениях.

После идентификации возбудителя и определения его чувствительности проводили целенаправленную терапию. Для MRSA-инфекций препаратами выбора были ванкомицин (1,0 г 2 раза в сутки в/в с коррекцией дозы по уровню креатинина) или линезолид (600 мг 2 раза в сутки в/в). При выявлении ESBL-продуцирующих штаммов Enterobacteriaceae - карбапенемы (имипенем/циластатин 0,5 г 4 раза в сутки в/в о) при необходимости в комбинации с тигециклином (100 мг нагрузочная доза, затем 50 мг 2 раза в сутки в/в).

Особое внимание уделяли лечению инфекций, вызванных Pseudomonas aeruginosa. В этих случаях применяли комбинации цефепима (2,0 г 3 раза в

сутки внутривенно) с амикацином (15-20 мг/кг 1 раз в сутки внутривенно) или ципрофлоксацином (400 мг 2 раза в сутки внутривенно). При выявлении полирезистентных штаммов применяли комбинации с колистином (9 млн МЕ нагрузочная доза, затем 4,5 млн МЕ 2 раза в сутки в/в) или фосфомицином (4,0 г 3 раза в сутки в/в).

Продолжительность антибиотикотерапии составляла в среднем 14-21 день и определялась динамикой клинических и лабораторных показателей. Критериями эффективности служат: нормализация температуры тела в течение 48-72 часов, снижение уровня С-реактивного белка на 50% от исходного к 5-7 дню лечения, уменьшение лейкоцитоза до нормальных значений, а также положительная динамика местного статуса (уменьшение отека, гиперемии, появление грануляций).

Анализ данных микробилогических исследований позволял в случае необходимости проводить коррекцию антибиотикотерапии с учетом выделенной микрофлоры и ее чувствительности к антибактериальным препаратам.

После получения данных микробиологических анализов, по необходимости, производили коррекцию антибиотикотерапии с учетом выделенной микрофлоры и ее чувствительности к антибактериальным препаратам. Замена антибиотиков потребовалась 15 % больным.

В качестве препарата второго ряда использовали цефалоспорины III и IV поколений, к которым были чувствительны микроорганизмы, выделенные из гнойного очага в случаях купирования облигатно-анаэробных микроорганизмов.

Целенаправленная антибактериальная терапия, а также своевременное оперативное вмешательство на гнойном очаге и дальнейшее адекватное местное медикаментозное лечение позволяли применять антибиотики курсами (15-20 сут) до достижения отчетливого клинического результата. Дальнейшее лечение открытой раны проводили повязками с препаратами, обеспечивающими высокий антимикробный эффект непосредственно в ране

(антисетики – йодопирон, йодовидон, повидон-йод, лавасепт, мирамистин, диоксидин и д.р.), которые позволяли добиться элиминации патогенных микроорганизмов из раны за счет широкого антимикробного действия.

В случаях рецидива инфекционного процесса (по данным лабораторных исследований и/или клиническим данным) или отсутствия положительного течения раневого процесса проводили повторные курсы антибактериальной терапии. Возобновление антибактериальной терапии также было целесообразно в случаях декомпенсации СД или ухудшения общего состояния пациента с возможным формированием отдаленных гнойных очагов (пневмония, пиелонефрит и т.д.). Правильно проводимое комплексное лечение с использованием местных лекарственных средств позволило сократить сроки применения антибиотиков, тем самым, обеспечить возможность проведения антибактериальной терапии курсами с перерывами между ними. Ранняя и необоснованная отмена антибактериальной терапии может приводить к рецидиву инфекционного процесса на стопе или развитию других инфекционных осложнений.

Переносимость длительной антибактериальной терапии, как правило, у большинства больных была хорошей. В редких случаях, у 3,2% пациентов отмечались побочные эффекты (тошнота, рвота). Профилактику диспептических нарушений осуществляли применением препаратов «бифидум-бактерин», «бактисубтил».

7.1.3. Применение препаратов метаболической модуляции

На современном этапе развития медицины широко используются многокомпонентные препараты, в том числе с антигипоксическим и антиоксидантным действием, к которым относится цитофлавин, эффективность которого не вызывает сомнений.

Компоненты, входящие в состав цитофлавина (рибоксин 200 мг, янтарная кислота 1000 мг, рибофлавин 20 мг, никотинамид 100 мг), оказывают синергичное метаболотропное действие и повышают

возможность продукции энергии в клетках.

Терапевтическая доза цитофлавина - 0,9% раствор NaCl – 200 мл в комбинации с растворимой формой - 20 мл внутривенного введения в сутки курсом лечения 10 дней с последующим пероральным приемом препарата по 2 таблетки 2 раза в день в течение 75 дней.

Применение цитофлавина при СДС, осложненном трофическими язвами, обусловливает нормализацию показателей прооксидантно-антиоксидантного равновесия, что выражается в снижении продуктов ПОЛ и повышении активности каталазы в сыворотке крови, а также способствует снижению уровня гликемического профиля; способствует улучшению микроциркуляции, магистрального и коллатерального кровотока по артериям нижних конечностей у больных с СДС, осложненным трофическими язвами; стимулирует процессы регенерации тканей за счет выраженного антиоксидантного, гипогликемического, вазодилятационного действия и ускоряет заживление язвенных дефектов; применение цитофлавина в отдаленном периоде способствует снижению процента рецидивов трофических язв, улучшению показателей прооксидантно-антиоксидантного равновесия, гликемического профиля, гемодинамики.

7.1.4. Местное медикаментозное лечение

Местное медикаментозное лечение - один из важных компонентов комплексного хирургического лечения ТЯ при СДС, который дополняет антимикробную терапию, обеспечивая антимикробное воздействие непосредственно в ране.

С целью купирования воспалительного процесса, скорейшего очищения раны, создания неблагоприятных условий для развития микроорганизмов и благоприятных условий для регенерации ткани мы применяли различные лекарственные средства в соответствии с фазой течения раневого процесса.

В первой фазе раневого процесса были использованы антисептики (йодопирон, йодовидон, повидон-йод, лавасепт), при отсутствии ишемии пораженной конечности мази на водорастворимой основе (левомиколь). Традиционно, в практической хирургии гнойных ран наиболее часто используют антисептики и мази на водорастворимой основе.

7.1.5. Местное применение бактериофагов

В работе были использованы лекарственные препараты бактериофагов производства АО «НПО «Микроген», зарегистрированные на территории РФ (таблица 4.1), а также бактериофаги из коллекции НМЦ по изучению и идентификации бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (таблица 4.2).

С 4 суток после получения результатов бактериального посева с учетом чувствительности штаммов ежедневно в течение 5 дней после тщательного промывания стерильным 0,9% раствором натрия хлорида рана дополнительно местно обрабатывается раствором персонально подобранного бактериофага от 2,0 до 5,0 мл в соответствии с патентом РФ №2664681 в титре, учитывающем оптимальное значение множественности инфицирования в очаге инфекции, фармакокинетику фага, а также возможный антифаговый иммунный ответ со стороны организма пациента, рабочий объем стерильного фаголизата зависит от площади язвенного дефекта, а нанесение его осуществляется на стерильную марлевую повязку в виде аппликаций со сменой повязки 1 раз в сутки.

На 6 сутки после применения бактериофагов выполняется контрольный бактериальный посев со дна язвы. В случае полного отсутствия и/или снижения бактериальной обсеменённости до 10^1-10^3 КОЕ/мл мультирезистентных микроорганизмов использование бактериофагов прекращается. Если же концентрация микроорганизмов превышает 10^3 КОЕ/мл, аппликации повязок с бактериофагами продолжаются от 3 до 5 дополнительных суток в зависимости от концентрации возбудителя с

последующим контрольным бактериальным посевом. Таким образом, срок обработки раны раствором бактериофага колеблется от 5 до 10 дней в зависимости от результатов бактериологического анализа язвенного дефекта. В случае появления в язвенном дефекте фагорезистентных микроорганизмов, требуется смена бактериофага с повторным персонализированным подбором к вновь высеянному из очага инфекции возбудителю и повторение курса фаготерапии с вновь подобранными фагами.

7.1.6. Применение низкотемпературной аргоновой плазмы

Ежедневно пациентам, включенным в исследование, проводились перевязки послеоперационных ран. Согласно протоколу исследования, перевязка начиналась с обработки физиологическим раствором (NaCl 0,9%). Раневая поверхность далее просушивалась с использованием стерильной марлевой салфетки, выполнялся микробиологический посев из раны. Аппарат включался и переводился в режим В2. Ручка сопла плазмотрона перемещалась к раневой поверхности.

В зависимости от фазы раневого процесса расстояние от сопла плазмотрона до раневой поверхности было различным.

В 1-ю фазу раневого процесса применялось воздействие НТАП с расстояния 10 см, тогда как во 2-ю - 15 см.

Процедура проводилась до состояния осушенной раневой поверхности с характерным матовым блеском, что свидетельствовало об образовании дегидратационной пленки.

Перевязка больных основной и контрольной группы завершалась наложением стерильной марлевой повязки с антисептиком или водорастворимой мазью.

7.1.7. Коррекция гиперкоагуляционных и сосудистых осложнений

Гиперкоагуляционные изменения при СД фоне гнойно-некротического поражения нижних конечностей имеют сложный патогенез. Ведущее место в

нем занимает процесс “активной фибринизации” организма, связанный с декомпенсацией СД, с воспалительной реакцией и/или ишемией. Это происходит в условиях истощения системы фибринолиза и антикоагулянтного потенциала крови при дисфункции эндотелия, метаболического синдрома, а также при изменении тромбоцитарного звена гемостаза.

В качестве препаратов реологической и антитромботической направленности мы применяли нефракционный гепарин. Антикоагулянтная активность гепарина связана со специфическим пентасахаридом, обладающим высоким сродством к АТ III. Гепарин проявляет активность в кровотоке только в комплексе с антитромбином III. Комплекс гепарин+антитромбин III обеспечивает инактивацию тромбина. AIII-гепарин ингибирует активность тромбина и активных центров сериновых протеаз, к которым относятся факторы XII, XI, X и IX. Эта реакция ингибирования тромбина и сериновых протеаз происходит в циркулирующем кровотоке и обеспечивает постоянную сохранность крови в жидком состоянии. На долю антитромбина III приходится 70-90% антитромбинового потенциала крови

7.2. Комплексное хирургическое лечение больных с трофическими язвами СДС (II-III WIFI)

7.2.1. Общие положения

Стратегия и тактика комплексного хирургического лечения пациентов с обширными гнойными ранами и дефектами тканей, осложненными гнойной инфекцией, базируется на основных принципах метода активного хирургического лечения гнойных ран, которые разработаны НМИЦ ВМТ им. А.А. Вишневского МО РФ.

Понятие «активное хирургическое лечение» включает комплекс мероприятий, направленный на максимальное сокращение сроков течения фаз раневого процесса с целью приближения его к неосложненному.

В комплексном хирургическом лечении пациентов с гнойно-некротическими поражениями ведущее место занимает тщательная хирургическая обработка очага инфекции. Именно этот этап, в сочетании с адекватным послеоперационным общим и местным лечением, создаёт благоприятные условия для перехода раневого процесса из воспалительной (альтернативной) фазы в фазу регенерации. Кроме того, своевременно проведённая операция открывает возможность для выполнения первичных и ранних реконструктивно-пластических вмешательств на мягких тканях и костных структурах, что имеет ключевое значение для сохранения анатомической целостности и функциональной способности конечности.

Успешное раннее восстановление поврежденного кожного покрова и замещение дефектов тканей в значительной степени определяют исход заболевания.

У больных с СДС хирургическую тактику строили, исходя из установленной формы диабетической стопы, характера, уровня и объема поражения тканей и сосудов конечностей.

Хирургическое лечение было этапным:

- первый этап: хирургическая обработка гнойно-некротического очага, а также, при необходимости, консервативная или хирургическая коррекция венозного кровотока пораженной конечности;
- второй этап: ранние пластические операции, направленные на максимально возможное сохранение функций стопы.

Комбинация биологических, физических и хирургических методов воздействия позволяет создать наиболее благоприятные условия для выполнения всего комплекса хирургического лечения язв при СДС, осложненных полирезистеной инфекцией, а также успешно преодолевать лекарственную резистентность микрофлоры и создавать оптимальные условия для выполнения ранних восстановительных операций.

7.2.2. Особенности хирургической обработки у больных с гнойным поражением СДС на фоне полирезистентной микрофлоры

Хирургическая обработка гнойно-некротических поражений конечности у больных с трофическими язвами (n= 257) являлась ведущим элементом комплексного хирургического лечения, которое выполнялась у больных (100 %) группы 1.

Из 250 больных группы 2, находившихся на лечении количество больных, которым проводилось хирургическое лечение составило 100 %.

Одним из важных факторов в хирургическом лечении являлись сроки выполнения оперативного вмешательства. Сроки выполнения ХО у всех больных с ТЯ СДС (II-III ст WIFI) представлены в таблице 7.1.

Таблица 7.1

Сроки выполнения ХО у больных с ТЯ СДС (II-III ст WIFI)

Тип операции	Основная группа		Контрольная группа	
	Кол-во больных (n=257)	Процент	Кол-во больных (n=250)	Процент
1 сутки	112	43	124	50
2-3 сутки	128	50	113	45
4 сутки и более	17	7	13	5

Как видно из представленных данных, в основной группе в первые сутки после поступления было прооперировано 112 (43,6%) пациентов, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 124 (49,6%). Во вторые-третьи сутки хирургическая обработка выполнена у 128 (49,8%) пациентов основной группы и у 113 (45,2%) пациентов контрольной группы. Отсрочка оперативного вмешательства на 4 сутки и более имела место у 17 (6,6%) больных основной группы и у 13 (5,2%) контрольной группы.

Статистический анализ не выявил достоверных различий в распределении сроков выполнения хирургической обработки между группами (p = 0,373), что свидетельствует о сопоставимости групп по данному показателю. Необходимо подчеркнуть, что временная отсрочка

операции ни в коем случае не исключала необходимость полноценного хирургического лечения и была обусловлена необходимостью предоперационной подготовки, включающей коррекцию метаболических нарушений, проведение антимикробной терапии и улучшение гемодинамических показателей.

Многоэтапное хирургическое лечение, включающее хирургическую обработку и восстановительные операции, выполнено у 257 больных группы 1 и у 250 больных группы 2.

Частота операций, выполненных на первом этапе хирургического лечения у больных с трофическими язвами СДС (II-III ст WIFI), представлена в таблице 7.2.

Таблица 7.2

Варианты ХО у пациентов с трофическими язвами СДС (II-III WIFI) на первом этапе хирургического лечения

Тип операции	Основная группа, n=257	%	Контрольная группа, n=250	%	p
ХО в пределах мягких тканей стопы	96	37,3	78	31,2	0,145
ХО с экзартикуляцией различных пальцев и/или резекцией плюсневых костей	58	22,6	31	12,4	0,003
ХО с резекцией пяточной кости	11	4,3	21	8,4	0,056
Ампутация, экзартикуляция пальцев	38	14,8	60	24,0	0,009
Ампутация, экзартикуляция пальцев с резекцией плюсневой кости	19	7,4	21	8,4	0,674
Трансметатарзальная резекция и по Шарпу	35	13,6	39	15,6	0,528
Всего	257	100	250	100	

Первый этап хирургического лечения включал хирургическую обработку гнойно-некротического очага. При выборе оперативного доступа исходили из необходимости обеспечить адекватное и наименее травматичное обнажение патологического очага с учётом анатомических особенностей стопы и возможных путей распространения инфекционного процесса. Объём хирургического вмешательства определяли исходя из распространённости некротических изменений, глубины поражения мягких тканей и костных структур, а также возможности сохранения жизнеспособных тканей и последующего восстановления опорной функции стопы.

Анализ структуры совокупности хирургических вмешательств (см. таблицу 7.2) выявил статистически значимые различия между основной и контрольной группами в целом (χ^2=18,34; df=5; p=0,0025), что свидетельствует о принципиально различной хирургической стратегии в сравниваемых группах. При этом наиболее существенные межгрупповые различия были связаны с характером органосохраняющих и ампутационных вмешательств.

В основной группе хирургическая обработка в пределах мягких тканей стопы выполнялась у 96 (37,3%) пациентов, тогда как в контрольной группе аналогичное вмешательство проведено у 78 (31,2%) больных. Несмотря на абсолютное увеличение частоты данного вида вмешательства в основной группе на 6,1 процентов, статистически значимых различий выявлено не было (p=0,145). Вместе с тем тенденция к более частому выполнению хирургической обработки без костной резекции соответствует общей направленности применяемой хирургической тактики на максимально возможное сохранение тканей стопы.

Наиболее выраженные различия отмечены при выполнении хирургической обработки с экзартикуляцией различных пальцев и/или резекцией плюсневых костей. В основной группе такие вмешательства выполнены у 58 (22,6%) пациентов, в контрольной — у 31 (12,4%). Различия являлись высоко статистически значимыми (p=0,003). Полученный результат свидетельствует о более широком использовании ограниченных резекционных вмешательств в основной группе при возможности сохранения максимального объёма стопы. Данный подход позволяет удалить некротизированные костные структуры в пределах поражённого сегмента, не

прибегая к более травматичным ампутациям, что принципиально важно для сохранения опорной функции стопы.

Хирургическая обработка с резекцией пяточной кости выполнялась у 11 (4,3%) пациентов основной группы и у 21 (8,4%) пациента контрольной группы. В основной группе данный вариант вмешательства применялся почти в два раза реже. Выявленная разница не достигала формального уровня статистической значимости (p=0,056), однако характеризовала устойчивую тенденцию к уменьшению объёма вмешательства на пяточной кости. Клинически это объясняется тем, что ранняя деконтаминация раны с применением таргетной фаготерапии и НТАП позволяла купировать инфекционный процесс до распространения некроза на пяточную кость, что снижало потребность в её резекции.

Противоположная закономерность отмечена при анализе ампутаций и экзартикуляций пальцев. В основной группе изолированная ампутация или экзартикуляция пальцев выполнена у 38 (14,8%) пациентов, тогда как в контрольной группе — у 60 (24,0%) больных. Различия являлись высоко статистически значими (p=0,009). Применение предложенной хирургической стратегии сопровождалось снижением частоты изолированных ампутационных вмешательств на 9,2 процентного пункта. Данный результат является прямым следствием реализации органосохраняющей тактики: предварительная деконтаминация раны и купирование инфекционного процесса создавали условия для выполнения ограниченных резекционных вмешательств вместо ампутаций.

Ампутация или экзартикуляция пальцев с резекцией плюсневой кости выполнялась с сопоставимой частотой: у 19 (7,4%) пациентов основной группы и у 21 (8,4%) пациента контрольной группы. Статистически значимых различий между группами не выявлено (p=0,674), что указывает на сопоставимую частоту данного вида вмешательства при глубоком поражении плюсневых костей независимо от применяемой стратегии лечения.

Трансметатарзальная резекция и резекция по Шарпу также выполнялись с сопоставимой частотой — у 35 (13,6%) пациентов основной группы и у 39 (15,6%) пациентов контрольной группы; статистически значимых межгрупповых различий не выявлено (p=0,528). Данный вид вмешательства выполняется при тотальном поражении переднего отдела

стопы и является вынужденной мерой при невозможности сохранения опорной конструкции переднего отдела, что объясняет сопоставимую частоту в обеих группах.

Суммарная частота ампутационных вмешательств различного объёма (изолированные ампутации пальцев, ампутации с резекцией плюсневой кости, трансметатарзальная резекция и резекция по Шарпу) в контрольной группе составила 32,4% (81 пациент), тогда как в основной группе — 22,2% (57 пациентов), что свидетельствует о снижении частоты ампутаций на 10,2 процентного пункта при реализации предложенного алгоритма.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о достоверном различии общей структуры хирургических вмешательств между группами ($p=0,0025$), преимущественно обусловленном более частым применением ограниченных органосохраняющих резекций в основной группе (22,6% против 12,4%; $p=0,003$) и меньшей частотой изолированных ампутаций пальцев (14,8% против 24,0%; $p=0,009$). При этом по ряду других видов операций статистически значимых различий не выявлено, что свидетельствует о сопоставимой частоте данных вмешательств при глубоком поражении соответствующих анатомических структур.

Об эффективности разработанной стратегии хирургического лечения свидетельствовало статистически значимое снижение частоты повторных хирургических обработок в основной группе. Повторные хирургические вмешательства потребовались у 102 (39,7%) из 257 пациентов группы 1, тогда как в контрольной группе — у 160 (64,0%) из 250 больных. Таким образом, абсолютное снижение частоты повторных хирургических обработок составило 24,3 процентного пункта. Выявленное различие являлось статистически значимым ($\chi^2=29,99$; $df=1$; $p<0,001$), что свидетельствует о существенно меньшей потребности в повторной хирургической обработке у пациентов основной группы.

При этом выполнение первичной хирургической обработки у больных контрольной группы не сопровождалось аналогичным снижением потребности в повторных вмешательствах. Полученные результаты указывают на важное значение комплексного подхода к лечению инфекционно-некротического процесса, включающего не только адекватную первичную хирургическую обработку, но и последующее целенаправленное

ведение раневого процесса и подготовку тканей к восстановительному лечению.

Целью повторных хирургических обработок являлись ревизия гнойно-некротического очага, выявление и устранение скрытых затёков и абсцессов, удаление сформировавшихся вторичных некрозов, а также санация раны и подготовка тканей к последующему пластическому закрытию раневого дефекта. Структура повторных хирургических вмешательств представлена в таблице 7.3. Таблица 7.3

Структура повторных хирургических вмешательств у больных с трофическими язвами при СДС II–III WIFI

Вариант повторной ХО	Группа 1, n=102,	%	Группа 2, n=160,	%	p
Некрэктомия	37	36,2	59	36,9	0,922
ХО с некрэктомией в пределах мягких тканей стопы	16	15,6	31	19,4	0,448
ХО с экзартикуляцией различных пальцев и/или резекцией плюсневых костей	22	21,6	19	11,8	0,035
ХО с резекцией пяточной кости	16	15,6	31	19,4	0,448
Трансметатарзальная резекция и резекция по Шарпу	11	10,8	20	12,5	0,675
Всего	102	100,0	160	100,0	

Анализ совокупной структуры повторных хирургических вмешательств показал, что общее распределение рассматриваемых вариантов операций между группами статистически значимых различий не имело (p = 0,303). Вместе с тем анализ отдельных видов вмешательств позволил установить определённые различия в характере хирургической тактики.

Наиболее часто в обеих группах выполнялась некрэктомия: у 37 (36,2%) пациентов основной группы и у 59 (36,9%) пациентов контрольной группы; различия статистически незначимы (p = 0,922). Хирургическая

обработка с некрэктомией в пределах мягких тканей стопы выполнялась соответственно у 16 (15,6%) и 31 (19,4%) пациентов (p = 0,448).

Наибольшая разница между группами отмечена при выполнении хирургической обработки с экзартикуляцией различных пальцев и/или резекцией плюсневых костей. В основной группе такие вмешательства выполнены у 22 (21,6%) пациентов, в контрольной — у 19 (11,8%), различие составило 9,8 процентного пункта (p = 0,035). Данный результат характеризует более частое применение в основной группе дистальных ограниченных резекционных вмешательств с сохранением максимально возможного объёма стопы. Необходимость таких вмешательств была преимущественно связана с наличием остеомиелитических секвестров (сформировавшихся до госпитализации), которые невозможно было одномоментно удалить без формирования нарушений опорной функции стопы.

В отношении хирургической обработки с резекцией пяточной кости различия между группами не достигали статистической значимости: 15,6% против 19,4% (p = 0,448). Трансметатарзальная резекция и резекция по Шарпу выполнялись соответственно у 10,8% и 12,5% пациентов (p = 0,675). Таким образом, отмечавшаяся большая частота данных вмешательств в контрольной группе имела преимущественно описательный характер и статистически значимого межгруппового различия не достигала.

Суммарная доля вмешательств, включавших резекцию пяточной кости и трансметатарзальную резекцию или резекцию по Шарпу, составила 26,5% в основной группе и 31,9% в контрольной группе. Таким образом, в контрольной группе отмечалась тенденция к большей доле повторных проксимальных вмешательств, сопровождавшихся резекцией костных структур.

Полученные результаты демонстрируют клиническую значимость разработанной тактики прежде всего в отношении снижения потребности в повторных хирургических обработках, что является прямым следствием

синергичного действия таргетной фаготерапии, НТАП на фоне венозной коррекции, которые обеспечили эрадикацию полирезистентных бактерийи и более раннему купированию инфекционного процесса.

Таким образом, эффективность разработанной стратегии проявлялась прежде всего в снижении общей потребности в повторной хирургической обработке, а не в статистически доказанном изменении всей структуры повторных вмешательств. Полученные результаты характеризуют хирургическую тактику основной группы как ориентированную на последовательную санацию инфекционно-некротического очага, максимальное сохранение жизнеспособных тканей и ограничение объема костных резекций при наличии соответствующих клинических возможностей.

Применение разработанного алгоритма комплексного хирургического лечения способствовало трансформации полирезистентного инфекционного процесса в фазу пролиферации, создавая необходимые условия для последующего выполнения пластических операций у больных с трофическими язвами при СДС II–III степени по классификации WII.

7.2.3. Особенности пластических операций у больных с трофическими язвами при СДС (WIFI ст II-III)

Разработанный лечебный алгоритм предусматривает последовательную реализацию двух этапов. Первый этап, включающий радикальную хирургическую обработку (в том числе повторную), направлен на достижение трёх основных целей: полную элиминацию инфекционного процесса, максимально возможное сохранение жизнеспособных тканей и адекватную подготовку раневого ложа к последующей пластической реконструкции. Второй этап (восстановительное оперативное вмешательство) выполнен у 186 пациентов (72,3%) основной группы и 178 пациентов (71,2%) группы сравнения.

Частота проведения восстановительных операций была сходой в обеих группах (p = 0,803).

Сроки выполнения одноэтапных восстановительных операций представлены в таблице 7.4.

Таблица 7.4

Сроки выполнения восстановительных операцийу больных с ТЯ при СДС (II-III WIFI)

Сроки операции	Основная группа (n=186)	Группа сравнения (n=178)	p
Менее 10 суток	83 (44,6%)	59 (33,2%)	**0,025**
10–14 сутки	59 (31,7%)	48 (27,0%)	0,320
15–19 сутки	32 (17,2%)	36 (20,2%)	0,460
Более 20 суток	12 (6,5%)	35 (19,6%)	0,001
Всего	186 (100%)	178 (100%)	

Результаты анализа сроков проведения восстановительных операций у пациентов с трофическими язвами демонстрируют статистически значимые различия между группами. Применение χ^2-критерия Пирсона выявило высокодостоверные различия в распределении сроков выполнения восстановительных операций ($p < 0,001$), что свидетельствует о принципиально различной динамике подготовки раневого ложа к пластическому закрытию в сравниваемых группах.

В основной группе 44,6% пациентов (83 из 186) получили хирургическое лечение в первые 10 суток после госпитализации. Данный показатель статистически значимо превышает результаты группы сравнения (33,2%, 59 из 178; p = 0,025). Возможность раннего выполнения восстановительных операций в основной группе обусловлена комплексным патогенетически обоснованным воздействием: быстрой деконтаминацией раны с применением таргетной бактериофаготерапии и низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП), устранением венозного стаза посредством

эндовенозной лазерной коагуляции (ЭВЛК) и системной метаболической поддержкой (цитофлавин). Указанный комплекс мероприятий обеспечивал быстрое купирование воспалительного процесса, эффективное очищение раны от некротических тканей и формирование оптимальных условий для репаративной регенерации уже в первой декаде госпитализации.

Анализ промежуточных временных интервалов показал, что различия в среднесрочных периодах не достигают уровня статистической значимости. На 10–14 сутки операции выполнены у 31,7% пациентов (59 случаев) в основной группе против 27,0% (48 случаев) в группе сравнения ($p = 0,320$). В период 15–19 суток показатели также оказались сопоставимыми: 17,2% (32 пациента) в основной группе и 20,2% (36 пациентов) в группе сравнения ($p = 0,460$). Это свидетельствует о том, что у части пациентов обеих групп стандартные сроки подготовки раневого ложа составляют около двух-трёх недель и не зависят от применяемой терапевтической стратегии.

Наиболее показательным и клинически значимым является сравнение отдалённых сроков выполнения операций (более 20 суток): в основной группе таких случаев зафиксировано 6,5% (12 пациентов), тогда как в группе сравнения данный показатель составил 19,6% (35 пациентов), что представляет собой высокодостоверное различие ($p < 0,001$). Таким образом, в группе сравнения каждый пятый пациент (19,6%) нуждался в длительной предоперационной подготовке, что более чем в 3 раза превышает аналогичный показатель в основной группе (6,5%). Данная категория вносит наиболее весомый вклад в общую статистическую значимость различий (вклад в χ^2 составил 12,26 из 16,43). Увеличение сроков предоперационной подготовки в группе сравнения было обусловлено персистенцией полирезистентной микрофлоры, сохраняющимся локальным отёком на фоне некорригированной хронической венозной недостаточности и тканевой гипоксией, что препятствовало формированию полноценной грануляционной ткани и создавало неблагоприятные условия для пластического закрытия раневого дефекта.

Полученные данные убедительно демонстрируют преимущества разработанного алгоритма, обеспечивающего смещение основного объёма реконструктивных вмешательств на более ранние сроки (менее 10 суток, $p = 0,025$) и статистически значимое снижение доли пациентов с длительной

предоперационной подготовкой (более 20 суток, $p < 0,001$). Раннее проведение пластической реконструкции способствует не только улучшению функциональных результатов, но и значительному сокращению сроков стационарного лечения пациентов с синдромом диабетической стопы.

Сокращение сроков подготовки к восстановительным операциям с 20 и более суток до менее 10 суток является клинически и медико-экономически значимым результатом. Это позволяет уменьшить длительность госпитализации, минимизировать риск развития нозокомиальных инфекций, снизить затраты на антибактериальную терапию и перевязочные материалы, а также ускорить социально-трудовую реабилитацию пациентов. Кроме того, раннее закрытие раневого дефекта создаёт условия для более быстрого восстановления опорной функции стопы, предотвращает формирование вторичных контрактур и существенно улучшает качество жизни пациентов в отдалённом периоде.

Таблица 7.5

Варианты восстановительных операций у больных с ТЯ при СДС (II-III ст WIFI)

Тип операции	Основная группа (n=186)	Группа сравнения (n=178)	p
Аутодермопластика	26 (13,9%)	44 (24,7%)	0,009
Наложение швов	38 (20,4%)	45 (25,3%)	0,269
Пластика местными тканями	47 (25,3%)	28 (15,7%)	0,023
Пластика сформированным лоскутом	6 (3,2%)	3 (1,7%)	0,332
Комбинированная пластика	33 (17,7%)	29 (16,3%)	0,708
Ампутация пальца + швы	20 (10,8%)	18 (10,1%)	0,842
Экзартикуляция пальцев и резекция плюсневой кости + швы	16 (8,6%)	11 (6,2%)	0,340
Всего	186 (100%)	178 (100%)	

Восстановительный этап хирургического лечения выполнен у 186 (72,4%) пациентов основной группы и 178 (71,2%) пациентов группы сравнения. Частота выполнения восстановительных вмешательств между группами статистически значимо не различалась (p=0,803), что свидетельствует о сопоставимой потребности в хирургическом закрытии раневого дефекта.

Принципиальной особенностью разработанной стратегии являлось формирование условий для выполнения восстановительных операций непосредственно в процессе последовательного лечения инфекционно-некротического поражения. При этом подготовка раневого дефекта к реконструкции рассматривалась не как изолированный хирургический этап, а как результат комплексного воздействия на основные патогенетические звенья процесса. В основной группе хирургическая санация сочеталась с таргетной бактериофаготерапией, НТАП, ЭВЛК и метаболической поддержкой цитофлавином. Такое сочетание было направлено соответственно на контроль полирезистентной бактериальной инфекции, коррекцию нарушений кровоснабжения и венозного оттока, а также поддержание энергетического и метаболического обеспечения тканей.

В результате последовательного применения указанных компонентов создавались более благоприятные условия для очищения раневого ложа, сохранения жизнеспособных тканей и последующего выполнения реконструктивных вмешательств. При этом полученные данные следует интерпретировать как результат действия комплексной хирургической стратегии, а не как изолированный эффект какого-либо одного лечебного компонента.

Общее распределение вариантов восстановительных операций также не имело статистически значимых межгрупповых различий (p=0,059). Вместе с тем построчный анализ выявил достоверные различия по двум ключевым направлениям реконструктивной тактики.

Пластика местными тканями являлась наиболее часто применяемым методом закрытия дефекта в основной группе — выполнена у 47 (25,3%) пациентов против 28 (15,7%) в группе сравнения; абсолютная разница составила 9,6 процентного пункта (p=0,025). Данный результат отражает принципиальную установку разработанной стратегии на использование

сохранённых жизнеспособных тканей, непосредственно прилежащих к раневому дефекту, что позволяло осуществлять реконструкцию без дополнительного забора тканей из отдалённых областей и минимизировать операционную травму.

Аутодермопластика, напротив, в группе сравнения выполнялась статистически значимо чаще - у 44 (24,7%) пациентов против 26 (13,9%) в основной группе (p=0,009); абсолютная разница составила 10,8 процентного пункта. Более низкая частота применения данного метода в основной группе обусловлена разработанной хирургической стратегией, предусматривавшей максимальное сохранение местных тканевых ресурсов на этапе первичной обработки и их последующее использование для реконструкции. Кроме того, пересаженный расщеплённый кожный лоскут в зоне опорной нагрузки стопы обладает ограниченной функциональной устойчивостью, что снижает целесообразность данного метода при наличии альтернативных вариантов закрытия дефекта.

По остальным видам восстановительных вмешательств статистически значимых межгрупповых различий не выявлено. Наложение швов выполнено у 38 (20,4%) пациентов основной группы и 45 (25,3%) группы сравнения (p=0,270); комбинированная пластика - у 33 (17,7%) и 29 (16,3%) соответственно (; p=0,713). Пластика сформированным лоскутом ввиду малых абсолютных чисел оценивалась с применением точного критерия Фишера: различия между группами (6 против 3 наблюдений) статистически незначимы (p=0,480). Ампутация пальца с наложением швов выполнена у 20 (10,8%) и 18 (10,1%) пациентов соответственно (p=0,842); экзартикуляция пальцев с резекцией плюсневой кости и наложением швов - у 16 (8,6%) и 11 (6,2%) (p=0,378).

Несмотря на применение всего арсенала реконструктивных методик, в ряде случаев достичь закрытия раны одномоментным пластическим вмешательством не удалось. Остаточные раневые дефекты, потребовавшие дополнительных пластических операций, зарегистрированы у 33 (12,9%) пациентов основной группы и 37 (14,8%) группы сравнения. Их формирование было связано с наличием краевой ишемии лоскута, частичным некрозом трансплантата, ограниченным локальным нагноением раны.

Характер повторных реконструктивных вмешательств в обеих группах был идентичным, что обусловлено однотипностью остаточных ран; при этом потребность в дополнительных операциях в основной группе была несколько ниже, что, вероятно, связано с более тщательной подготовкой раневого ложа на этапе первичной хирургической обработки.

В основной группе закрытие раневого дефекта не выполнялось у 51 (19,8%) пациента в связи с сохраняющейся тенденцией к активному заживлению вторичным натяжением. Летальный исход зарегистрирован у 6 (2,3%) пациентов: в 4 случаях причиной смерти явилась острая сердечная недостаточность, в 2 — острый инфаркт миокарда. Пять (2,0%) пациентов выписаны с остаточной открытой раной для продолжения амбулаторного лечения при положительной динамике заживления; два (0,8%) пациента выписаны по собственной инициативе после купирования инфекционного процесса и достижения очищения раневой поверхности.

В группе сравнения заживление ран вторичным натяжением отмечено у 42 (16,8%) пациентов. Летальный исход зарегистрирован у 7 (2,8%) больных: в 2 случаях причиной смерти явился инфаркт миокарда, в 4 — острая сердечная недостаточность, в 1 — инфекционный эндокардит, осложнённый септическим шоком. Двенадцать (4,8%) пациентов выписаны с остаточной открытой раной для дальнейшего амбулаторного наблюдения; три (1,2%) пациента выписаны по собственной инициативе после купирования инфекционного процесса.

Высокие ампутации выполнены у 7 (2,7%) пациентов основной группы и 8 (3,2%) группы сравнения; различия статистически незначимы (p=0,777). Показаниями к высокой ампутации служили прогрессирующее тотальное гнойно-некротическое поражение стопы с распространением на голень в сочетании с полиорганной недостаточностью на фоне тяжёлой общей интоксикации. В основной группе во всех случаях ампутация выполнена на уровне голени с одномоментным формированием культи. В группе сравнения у 3 из 8 пациентов культя формировалась в отсроченном порядке.

Средняя продолжительность стационарного лечения составила 17,58±0,46 суток в основной группе и 22,25±0,58 суток в группе сравнения; различие статистически значимо ($p<0,001$). Применение разработанного алгоритма сопровождалось сокращением продолжительности госпитализации на 4,67 суток, или на 21,0%.

Таким образом, анализ структуры восстановительных вмешательств свидетельствует, что основное межгрупповое различие определялось не общей частотой выполнения реконструктивных операций, а соотношением отдельных методов закрытия раневого дефекта. В основной группе статистически значимо чаще применялась пластика местными тканями (25,3% против 15,7%; $p=0,025$), тогда как аутодермопластика использовалась достоверно реже (13,9% против 24,7%; $p=0,009$). По остальным вариантам восстановительных операций, а также по частоте высоких ампутаций межгрупповые различия статистически значимого характера не имели. Выявленное сокращение продолжительности стационарного лечения дополняет данные о клинической эффективности разработанной модели и подтверждает целесообразность последовательного принципа хирургического лечения, включающего санацию инфекционно-некротического очага, максимальное сохранение жизнеспособных тканей и восстановление раневого дефекта с учётом анатомо-функциональных возможностей поражённой стопы.

ГЛАВА 8. ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЭНДОВАЗАЛЬНОЙ ЛАЗЕРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ В СОЧЕТАНИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЦИТОФЛАВИНА

Разработанный алгоритм представляет собой перспективную стратегию лечения ран и язв при синдроме диабетической стопы, осложненных полирезистентной инфекцией. Методика комбинирует таргетную бактериофаготерапию, современные физические методы антимикробного воздействия (включая НТАП), коррекцию гемодинамических и метаболических нарушений, а также радикальную хирургическую обработку с последующими ранними реконструктивно-пластическими операциями.

В исследовании проведена комплексная оценка ближайших и отдаленных результатов у пациентов с раневыми дефектами СДС на фоне хронической венозной недостаточности (ХВН), осложненными полирезистентной инфекцией.

С учетом патогенетических механизмов заболевания динамический мониторинг включал:

- Оксидативный статус (уровень малонового диальдегида, активность каталазы);
- Гликемический контроль (показатели углеводного обмена);
- Параметры магистрального кровотока (допплерографические данные);
- Частоту рецидивов трофических язв.

Сравнительный анализ проводился на основании исходных, промежуточных (10-е сутки) и отдаленных результатов лечения. В ходе наблюдения отмечалось постепенное сокращение числа пациентов в обеих группах на каждом последующем этапе исследования.

Исследуемые группы:

Группа 1 (n=191) - пациенты, получавшие комбинированное лечение, включавшее:

- эндовенозную лазерную коагуляцию (ЭВЛК)
- курс консервативной терапии с применением Цитофлавина

Группа 2 (n=178) - пациенты, получавшие комплексное лечение без венозной коррекции и метаболического препарата Цитофлавин.

Эффективность комплексного лечения исследована на различных этапах наблюдения (до лечения, на 10-е сутки, 1-й месяц, 3-й месяц и 6-й месяц после проведенного лечения).

8.1. Динамика показателей венозного статуса

Анализ клинических проявлений хронической венозной недостаточности в динамике (до лечения, на 10-е сутки, через 1, 3 и 6 месяцев) выявил статистически значимый регресс всех изучаемых симптомов у пациентов группы 1, получивших комбинированное лечение с эндовенозной лазерной коагуляцией и цитофлавином ($p<0,05$), при отсутствии положительной динамики в группе 2.

Частота выявления варикозно-трансформированных вен в группе 1 к 10-м суткам после вмешательства снизилась на 71% от исходного уровня — со 100% до 29% ($p<0,001$). К 1-му месяцу зафиксировано дополнительное уменьшение показателя на 10%, тогда как в интервале от 3 до 6 месяцев динамика стабилизировалась с незначительными колебаниями ($p>0,05$). В группе 2 существенных изменений частоты выявления данного симптома на всех этапах наблюдения не отмечено ($p=0,732$) (рис. 8.1).

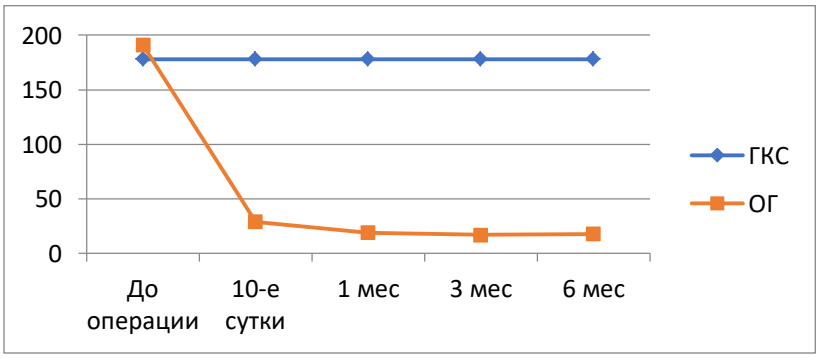


Рис. 8.1 Частота выявления варикозно-трансформированных вен

Выраженность отёков нижних конечностей в группе 1 на 10-е сутки после операции уменьшилась на 73% от исходного уровня (p<0,001), с дополнительным снижением на 8% к 1-му месяцу (p=0,033). В интервале от 3 до 6 месяцев дальнейшее снижение было незначительным и составило не более 1,6% (p>0,05). В группе 2 статистически значимых изменений не выявлено (p>0,05) (рис. 8.2).

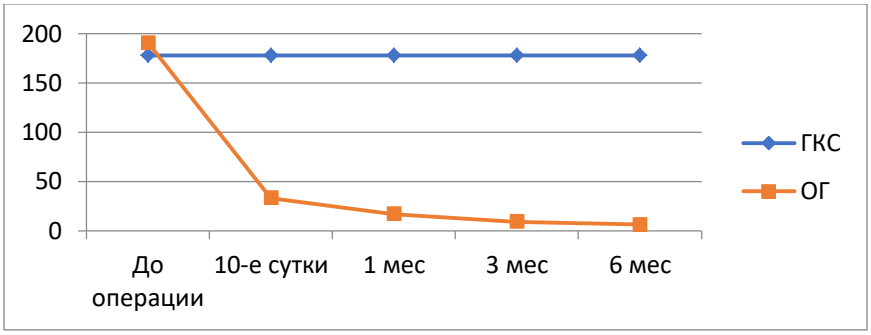


Рис. 8.2 Отеки нижних конечностей

Частота ортостатической круралгии в группе 1 снизилась в 3 раза от исходных значений уже к 10-м суткам (p<0,001) и сохранялась на достигнутом уровне к 1-му месяцу (p<0,001). В интервале от 3 до 6 месяцев статистически значимых изменений не отмечено (p>0,05). В группе 2 зафиксировано нарастание клинических проявлений на 12% к 6-му месяцу наблюдения (p=0,042) (рис. 8.3).

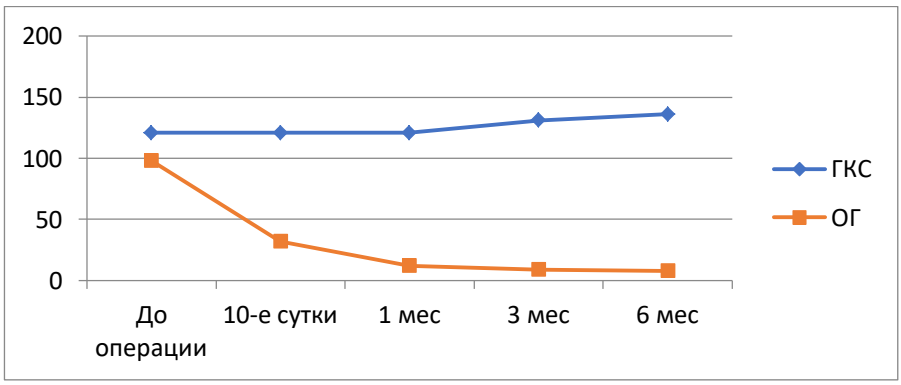


Рис. 8.3 Ортостатическая круралгия

Судороги в икроножных мышцах в группе 1 демонстрировали устойчивую тенденцию к снижению: на 56% к 10-м суткам (p<0,001), на 35% к 1-му месяцу (p=0,003), на 40% к 3-му месяцу (p=0,001) и на 60% к 6-му месяцу (p<0,001). В группе 2 отмечено прогрессирование данного симптома

начиная с 1-го месяца с последующим приростом на 22% к 6-му месяцу (p=0,017) (рис. 8.4).

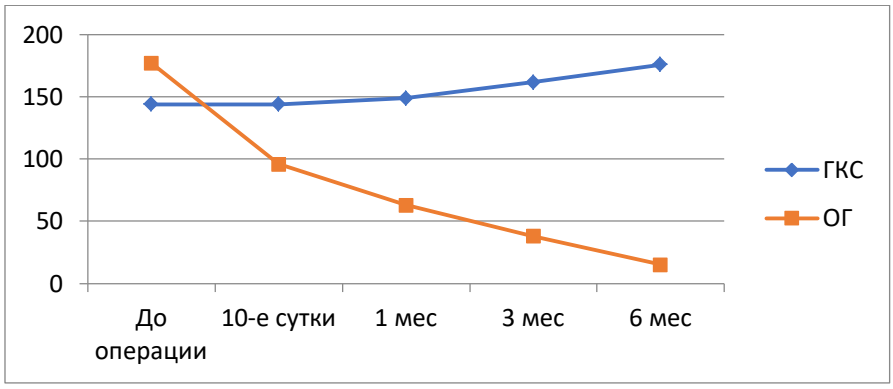


Рис. 8.4 Судороги в икроножных мышцах

Проявления гипостатической экземы в группе 1 характеризовались устойчивым регрессом: снижение на 69% к 10-м суткам (p<0,001), на 62% к 1-му месяцу (p<0,001), на 50% к 3-му месяцу (p<0,001) и стабилизация к 6-му месяцу с сохранением достигнутого уровня (p>0,05). В группе 2 отмечено прогрессирование на 24% к 6-му месяцу (p=0,012) (рис. 8.5).

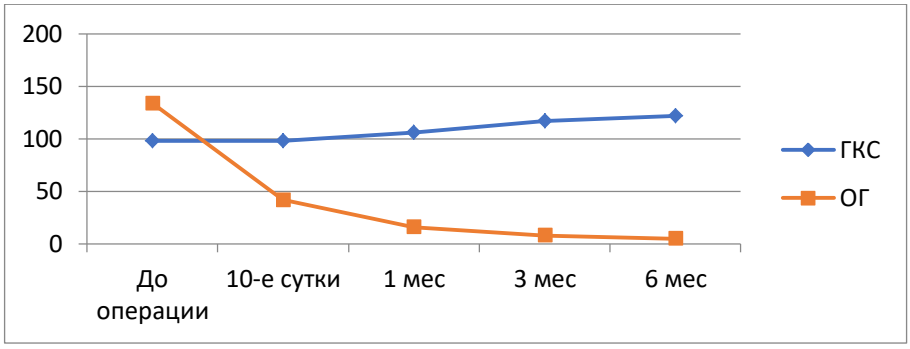


Рис. 8.5 Гипостатическая экзема

Таким образом, у пациентов основной группы после проведённого оперативного вмешательства отмечается устойчивый регресс основных клинических симптомов варикозной болезни, что оказывает непосредственное патогенетическое воздействие на раневой процесс, способствуя более эффективному и длительному безрецидивному заживлению ран и трофических язв у пациентов с полирезистентной раневой инфекцией (p<0,001). Особого внимания заслуживает способность разработанного алгоритма обеспечивать стойкую ремиссию в течение полугода, что подтверждается статистически значимым уменьшением всех

клинических проявлений в группе 1 при их прогрессировании в группе 2.

8.2. Анализ показателей венозного оттока

Сравнительный анализ показателей венозной гемодинамики в ближайшем послеоперационном периоде (10-е сутки) и в отдалённые сроки наблюдения (3 и 6 месяцев) выявил различия в динамике показателей венозного оттока у пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС), осложнённым полирезистентной инфекцией, в зависимости от применяемой лечебной тактики. Оценивали основные показатели кровотока в большой подкожной вене (БПВ), бедренной вене (БВ) и подколенной вене (ПКВ): диаметр вены (D), среднюю линейную скорость кровотока (Vmean) и объёмную скорость кровотока (Vvol).

Большая подкожная вена (БПВ). У пациентов группы 1 (комбинированное лечение с ЭВЛК и цитофлавином) диаметр (D), средняя линейная скорость кровотока (Vmean) и объёмная скорость кровотока (Vvol) БПВ не определялись с первых суток после операции, что свидетельствует о полной облитерации вены и эффективном устранении патологического вертикального рефлюкса ($p<0,001$).

В группе 2, получавшей стандартную терапию без коррекции поверхностного венозного рефлюкса, к 6-му месяцу наблюдения отмечалась неблагоприятная динамика показателей БПВ. Диаметр вены увеличился на 11% — с 7,9±3,8 до 8,8±4,1 мм ($p<0,05$), при одновременном снижении Vmean на 17% — с 14,3±8,1 до 11,9±7,3 см/с ($p<0,05$). Vvol увеличилась на 40% — с 0,15±0,21 до 0,21±0,28 л/мин ($p<0,05$). Сочетание увеличения диаметра БПВ со снижением линейной скорости кровотока при отсутствии коррекции патологического рефлюкса соответствовало сохранению и прогрессированию нарушений венозной гемодинамики.

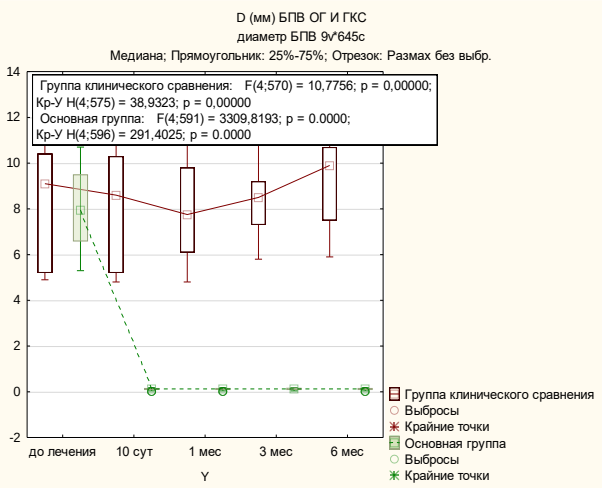


Рис. 8.6 (а) Динамика D (мм) БПВ у пациентов исследуемых групп

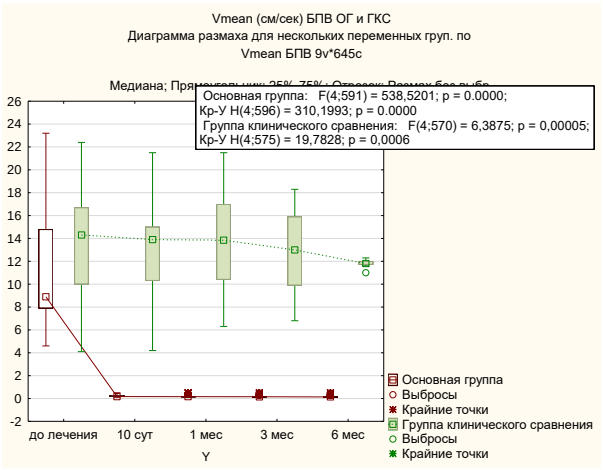


Рис. 8.6 (б) Динамика Vmean (см/сек) БПВ у пациентов исследуемых групп

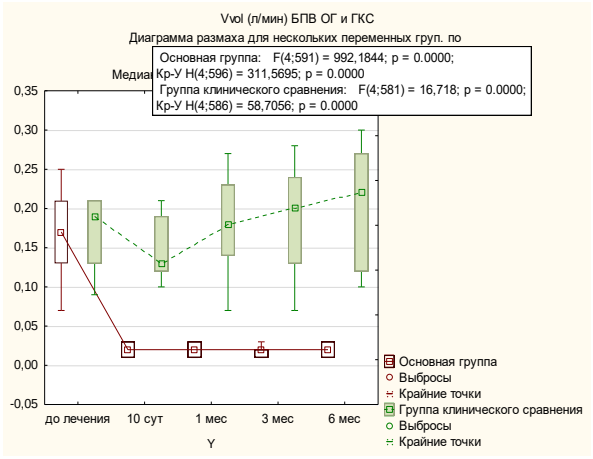


Рис. 8.6 (в) Динамика Vvol (л/мин) БПВ у пациентов исследуемых групп

Бедренная вена (БВ). У пациентов группы 1 отмечена выраженная компенсаторная перестройка гемодинамики. Диаметр БВ увеличился на 55%

к 10-м суткам (с 9,5±2,5 до 14,7±1,3 мм; p < 0,01) и продолжал расти к 6-му месяцу, достигнув прироста 71% от исходных значений (16,2±1,5 мм; p < 0,001). Средняя линейная скорость кровотока (Vmean) к 10-м суткам возросла на 25% (с 14,9±9,7 до 18,7±7,1 см/сек; p < 0,05), а к 6-му месяцу составила 12% от исходного уровня (16,7±6,8 см/сек; p < 0,05), сохраняя положительную динамику. Объёмная скорость кровотока (Vvol) демонстрировала устойчивый рост с максимальным приростом на 3-м месяце — 124% (с 0,85±0,7 до 1,90±1,1 л/мин; p < 0,001), с последующим незначительным снижением к 6-му месяцу до 114% (1,82±1,0 л/мин; p < 0,001) выше исходного уровня.

В группе 2 диаметр БВ оставался без существенных изменений (p > 0,05). При этом отмечалась неблагоприятная динамика скоростных показателей: Vmean снизилась на 17% — с 15,2±7,3 до 12,6±6,1 см/с (p<0,05), а Vvol уменьшилась на 23% — с 0,91±0,7 до 0,70±0,5 л/мин (p<0,05). Выявленная динамика соответствовала снижению скоростных характеристик глубокого венозного кровотока в отсутствие коррекции патологического поверхностного рефлюкса.

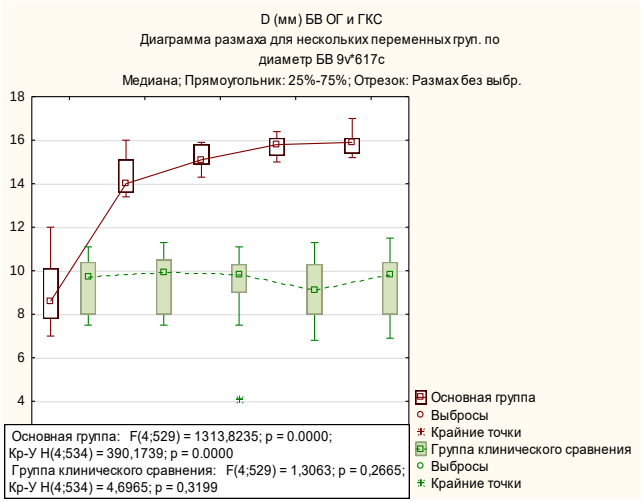


Рис. 8.7 (а) Динамика D (мм) БВ у пациентов исследуемых групп

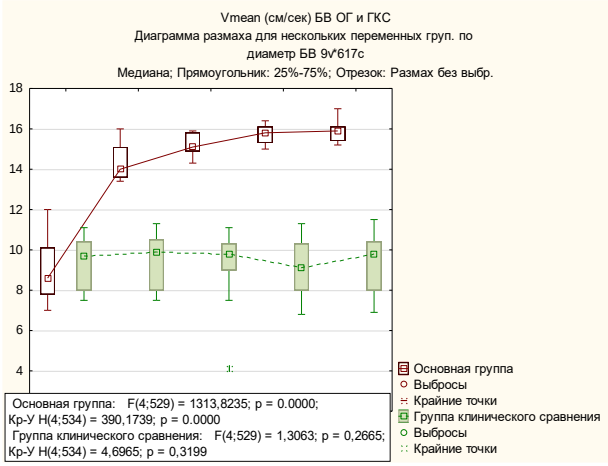


Рис. 8.7 (б) Динамика Vmean (см/сек) БВ у пациентов исследуемых групп

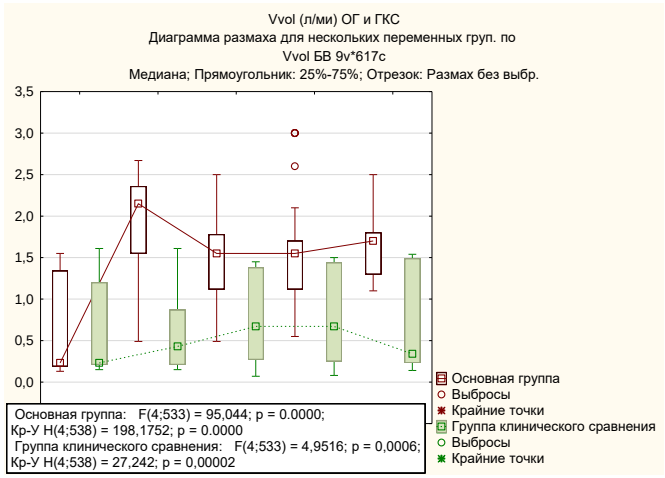


Рис. 8.7 (в) Динамика Vvol (л/мин) БВ у пациентов исследуемых групп

Подколенная вена (ПКВ). У пациентов группы 1 отмечалась положительная динамика показателей венозной гемодинамики в подколенной вене. Диаметр ПКВ к 10-м суткам увеличился на 21% — с 7,5±1,9 до 9,1±1,6 мм ($p<0,01$), а к 6-му месяцу достиг 9,7±1,3 мм, что соответствовало увеличению на 29% относительно исходного значения ($p<0,01$).

Средняя линейная скорость кровотока увеличилась к 10-м суткам на 24% — с 7,8±3,9 до 9,7±3,2 см/с ($p<0,05$), а к 6-му месяцу достигла 10,3±2,6 см/с, что соответствовало увеличению на 32% относительно исходного уровня ($p<0,01$).

Объёмная скорость кровотока к 6-му месяцу увеличилась с 0,26±0,4 до 0,48±0,3 л/мин, что соответствовало приросту на 85% относительно

исходного значения (p<0,001).

В группе 2 диаметр ПКВ статистически значимо не изменялся. Vmean снизилась на 16% — с 6,9±4,8 до 5,8±4,2 см/с (p<0,05), тогда как Vvol статистически значимо не изменялась (p>0,05). Таким образом, в контрольной группе отсутствовала положительная динамика показателей глубокого венозного кровотока, характерная для пациентов группы 1.

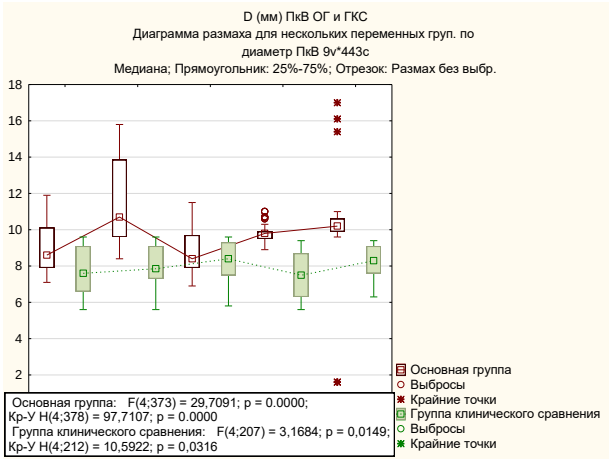


Рис. 8.8 (а) Динамика D (мм) ПКВ у пациентов исследуемых групп

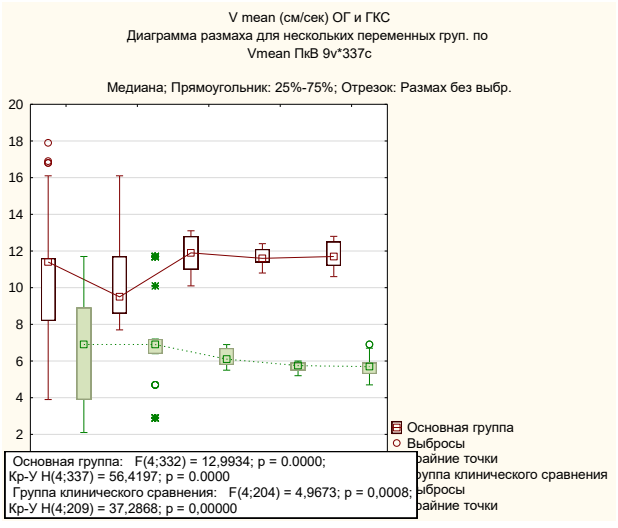


Рис. 8.8 (б) Динамика Vmean (см/сек) ПКВ у исследуемых групп

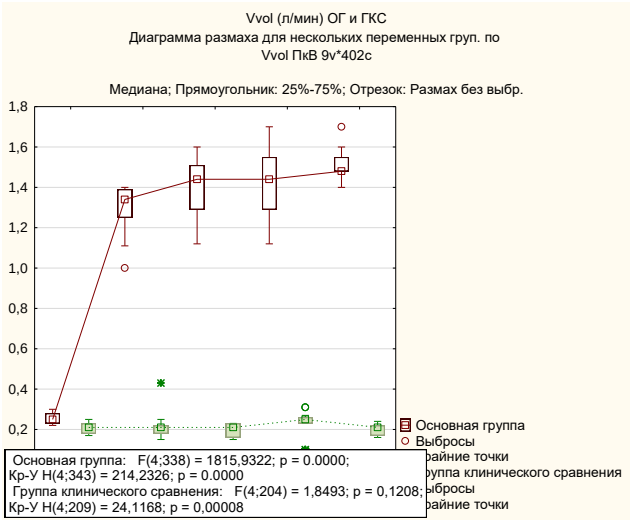


Рис. 8.8 (в) Динамика Vvol (л/мин) ПКВ у пациентов исследуемых групп

Проведённый анализ продемонстрировал различия в динамике показателей венозной гемодинамики между группами пациентов с СДС, осложнённым полирезистентной инфекцией.

В группе 1, в которой коррекция патологического поверхностного венозного рефлюкса выполнялась методом ЭВЛК в составе комплексного лечения, с первых суток после вмешательства регистрировалась полная облитерация БПВ. В отличие от этого, в группе 2 сохранялся патологический венозный рефлюкс, сопровождавшийся увеличением диаметра БПВ на 11% и снижением Vmean на 17% к 6-му месяцу наблюдения.

В глубокой венозной системе группы 1 выявлена положительная динамика показателей кровотока. В БВ диаметр увеличился на 55% к 10-м суткам и на 71% к 6-му месяцу, Vmean — на 25% и 12% соответственно, а Vvol достигла максимального прироста 124% к 3-му месяцу и сохраняла увеличение на 114% к 6-му месяцу относительно исходного уровня. В ПКВ к 6-му месяцу увеличение диаметра составило 29%, Vmean — 32%, Vvol — 85%.

В группе 2, напротив, отмечалось снижение скоростных характеристик глубокого венозного кровотока: Vmean в БВ уменьшилась на 17%, Vvol — на 23%, а Vmean в ПКВ — на 16%; при этом изменение Vvol ПКВ не достигало статистической значимости.

Таким образом, коррекция патологического поверхностного венозного рефлюкса методом ЭВЛК приводит к стойкой перестройкой венозной гемодинамики в течение 6 месяцев наблюдения. Характеризуется устранением патологического вертикального рефлюкса по БПВ и увеличением скоростных и объёмных показателей кровотока в БВ и ПКВ. Это свидетельствует о формировании компенсаторной перестройки глубокого венозного кровотока после устранения патологического поверхностного рефлюса.

В контрольной группе сохранение патологического поверхностного рефлюкса сопровождалось увеличением диаметра БПВ и снижением Vmean в БПВ и глубоких венозных сегментах, что указывает на менее благоприятную динамику венозной гемодинамики.

Полученные результаты подтверждают целесообразность коррекции патологического венозного рефлюкса в составе комплексного лечения пациентов с СДС, осложнённым полирезистентной инфекцией, и свидетельствуют о возможности стабилизации показателей венозного оттока в течение 6 месяцев после лечения.

8.3. Динамика показателей антиоксидантной системы и гликемического профиля

Проведён анализ динамики биохимических показателей, характеризующих состояние антиоксидантной системы и гликемического профиля, у пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС), осложнённым полирезистентной инфекцией, в зависимости от применяемой лечебной тактики.

В группу 1 вошли пациенты, которым проводили комбинированное лечение, включавшее хирургическую коррекцию венозного кровотока и метаболическую терапию цитофлавином. Пациенты группы 2 получали комплексное лечение без хирургической коррекции венозного кровотока и без применения цитофлавина.

Исследование показателей проводили в пяти временных точках: до начала лечения, на 10-е сутки, через 1, 3 и 6 месяцев после лечения.

При интерпретации результатов учитывали два типа сравнений: изменение показателя относительно исходного значения внутри каждой группы и различия между группами в одинаковые сроки наблюдения.

8.3.1. Динамика изменения концентрации МДА у больных исследуемых групп

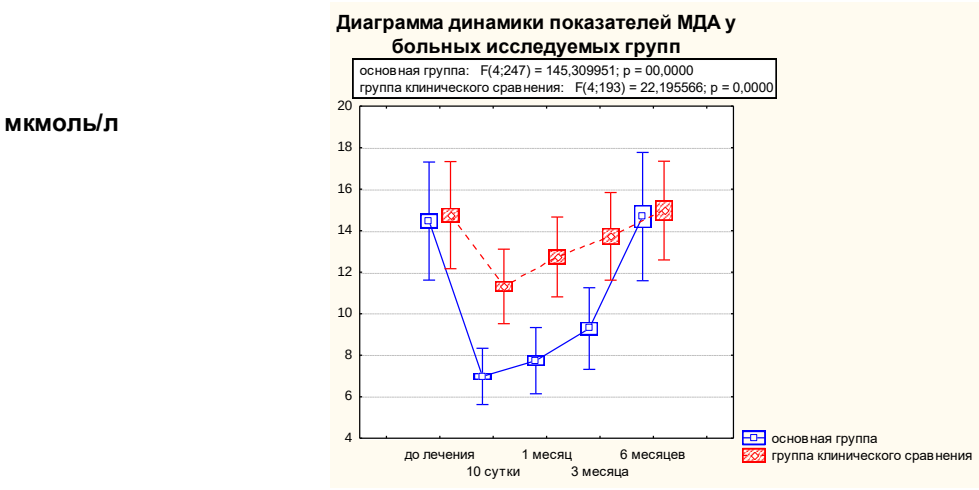


Рис. 8.9. Динамика изменения концентрации МДА у пациентов исследуемых групп

В отдалённом периоде в обеих группах отмечено закономерное повышение концентрации МДА, отражающее активацию процессов перекисного окисления липидов (рис. 8.9).

В группе 1 исходная концентрация МДА составляла 14,46±2,84 мкмоль/л. На 10-е сутки после лечения показатель снизился до 6,98±1,35 мкмоль/л, что соответствовало уменьшению в 2,07 раза относительно исходного уровня ($p < 0,05$). Через 1 месяц концентрация МДА составила 8,45±1,60 мкмоль/л, оставаясь ниже исходного значения ($p < 0,05$). К 3-му месяцу показатель возвратился к уровню 10-х суток (6,98 мкмоль/л), что, вероятно, связано с продолжающимся пероральным курсом цитофлавина. В период с 3-го до 6-го месяца концентрация МДА увеличилась в 1,58 раза — с 6,98±1,35 до 11,02±2,10 мкмоль/л ($p < 0,01$). Несмотря на это повышение,

значение на 6-м месяце не достигало исходного уровня (14,46±2,84 мкмоль/л).

Таким образом, в группе 1 наиболее выраженное снижение концентрации МДА отмечалось в ранние сроки после лечения, после чего наблюдалось постепенное увеличение показателя. Полученная динамика свидетельствует о временном снижении интенсивности процессов перекисного окисления липидов после проведения комбинированного лечения.

В группе 2 исходная концентрация МДА составляла 14,75±2,58 мкмоль/л. К 6-му месяцу показатель увеличился до 16,20±2,90 мкмоль/л. Прирост составил 9,8%, при этом статистически значимых внутригрупповых различий не выявлено ($p > 0,05$).

При межгрупповом сравнении установлено, что на 10-е сутки концентрация МДА в группе 1 была ниже, чем в группе 2: 6,98±1,35 против 11,32±1,80 мкмоль/л соответственно ($p < 0,05$). Через 1 месяц аналогичное различие сохранялось: 8,45±1,60 против 12,10±2,00 мкмоль/л соответственно ($p < 0,05$). К 6-му месяцу различия между группами по концентрации МДА статистически значимыми не являлись: 11,02±2,10 против 16,20±2,90 мкмоль/л ($p > 0,05$).

Таким образом, после лечения цитофлавином в период до трёх месяцев сохраняется антиоксидантный эффект препарата, который нивелируется к 6-му месяцу. В группе 2 значимой динамики МДА не выявлено.

8.3.2. Динамика изменения активности каталазы у больных исследуемых групп

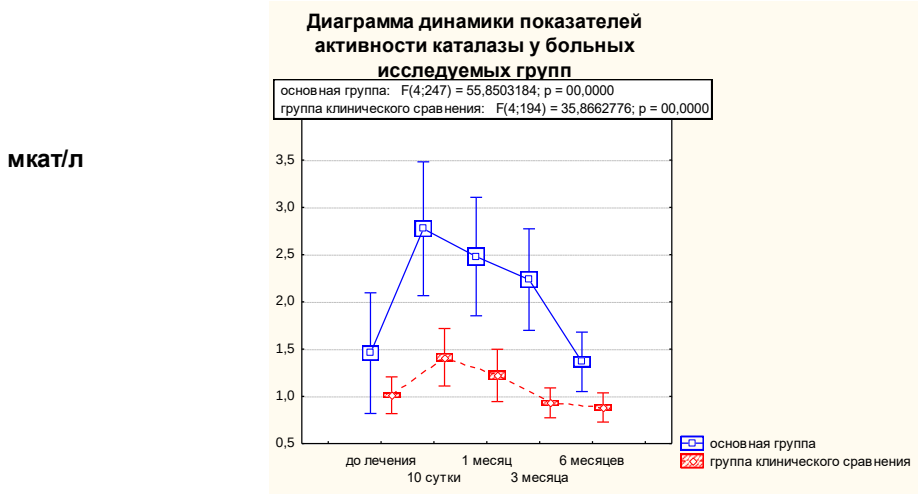


Рис. 8.10. Динамика изменения активности каталазы у пациентов исследуемых групп

В отдалённом периоде в группе 1 отмечается понижение уровня активности каталазы (рис. 8.10), отражающее истощение антиоксидантного потенциала после отмены цитофлавина.

В группе 1 исходная активность каталазы составляла 1,46±0,64 мкат/л. На 10-е сутки после лечения показатель увеличился до 2,77±0,71 мкат/л, то есть в 1,9 раза по сравнению с исходным значением ($p < 0,01$). Через 1 месяц активность каталазы составляла 2,54±0,65 мкат/л, а через 3 месяца — 2,24±0,54 мкат/л. В период с 3-го до 6-го месяца активность каталазы дополнительно снизилась с 2,24±0,54 до 1,37±0,31 мкат/л, что соответствовало уменьшению в 1,63 раза ($p < 0,01$). Следует отметить, что значение активности каталазы на 6-м месяце (1,37±0,31 мкат/л) было несколько ниже исходного уровня (1,46±0,64 мкат/л), что свидетельствует об истощении антиоксидантного резерва к этому сроку.

В группе 2 исходная активность каталазы составляла 1,01±0,19 мкат/л. На 10-е сутки показатель увеличился до 1,41±0,30 мкат/л, однако в последующем отмечалось неуклонное снижение: через 1 месяц — до 1,22±0,25 мкат/л, через 3 месяца — до 0,93±0,16 мкат/л, а через 6 месяцев — до 0,88±0,15 мкат/л. Снижение активности каталазы в период с 10-х суток до

3-го месяца составило 1,51 раза ($p < 0,05$). В период с 3-го до 6-го месяца снижение с 0,93±0,16 до 0,88±0,15 мкат/л статистически значимым не являлось ($p > 0,05$).

При межгрупповом сравнении установлено, что активность каталазы в группе 1 была выше, чем в группе 2, на 10-е сутки (2,77±0,71 против 1,41±0,30 мкат/л; $p < 0,01$), через 1 месяц (2,54±0,65 против 1,22±0,25 мкат/л; $p < 0,01$) и через 3 месяца (2,24±0,54 против 0,93±0,16 мкат/л; $p < 0,01$). Через 6 месяцев различие сохранялось (1,37±0,31 против 0,88±0,15 мкат/л), однако его статистическая значимость была ниже ($p < 0,05$).

Таким образом, наиболее выраженное увеличение активности каталазы в группе 1 наблюдалось на 10-е сутки после лечения. В последующем активность фермента постепенно снижалась, однако на протяжении всего периода наблюдения абсолютные значения в группе 1 оставались выше соответствующих значений группы 2.

8.3.3. Динамика изменения показателей гликемического профиля

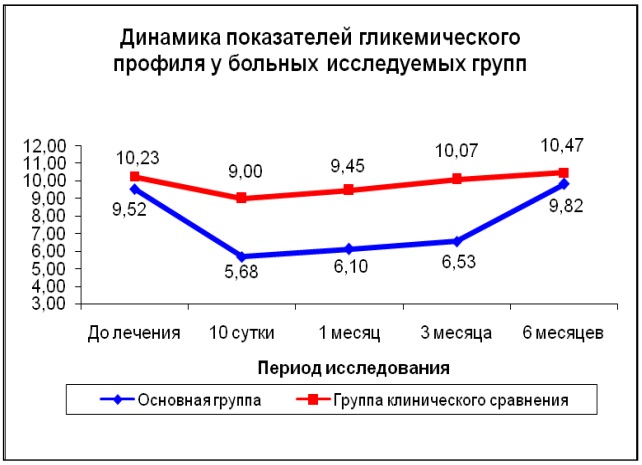


Рис. 8.11. Динамика изменения показателей гликемического профиля

В группе 1 исходное значение составляло 9,52±1,32 ммоль/л. На 10-е сутки после лечения показатель снизился до 5,68±0,64 ммоль/л, что соответствовало уменьшению на 40% относительно исходного уровня ($p < 0,05$). Через 1 месяц показатель составлял 6,10±0,85 ммоль/л, через 3 месяца — 6,53±1,19 ммоль/л. К 6-му месяцу отмечено увеличение до 9,82±1,09 ммоль/л. Наиболее выраженное увеличение показателя в группе 1

наблюдалось в период с 3-го до 6-го месяца — с 6,53±1,19 до 9,82±1,09 ммоль/л, что соответствует приросту на 50,4%.

В группе 2 исходный уровень гликемического профиля составлял 10,23±1,58 ммоль/л. На 10-е сутки он снизился до 9,00±1,39 ммоль/л, однако статистически значимых различий с исходным уровнем не выявлено ($p > 0,05$). Через 3 месяца показатель составлял 10,07±1,58 ммоль/л, а к 6-му месяцу увеличился до 10,47±1,63 ммоль/л. Прирост в период с 3-го до 6-го месяца составил 4,0%.

При межгрупповом сравнении через 10 суток после лечения уровень гликемического профиля в группе 1 был ниже, чем в группе 2: 5,68±0,64 против 9,00±1,39 ммоль/л соответственно ($p < 0,01$). Через 1 месяц различие сохранялось: 6,10±0,85 против 9,45±1,50 ммоль/л ($p < 0,01$). Через 3 месяца показатель в группе 1 оставался ниже показателя группы 2: 6,53±1,19 против 10,07±1,58 ммоль/л ($p < 0,01$). К 6-му месяцу различие между группами уменьшилось и статистически значимого межгруппового различия не выявлено: 9,82±1,09 против 10,47±1,63 ммоль/л ($p > 0,05$).

Таким образом, в группе 1 наиболее выраженное снижение показателя гликемического профиля отмечалось на 10-е сутки после лечения, после чего наблюдалось его постепенное увеличение. Статистически значимое преимущество группы 1 по сравнению с группой 2 сохранялось до 3 месяцев наблюдения, тогда как к 6-му месяцу межгрупповые различия нивелировались. Выявленная динамика характеризует сопряжённые изменения показателей на фоне комплексного лечения и подтверждает патогенетическую обоснованность включения цитофлавина в комплексную терапию пациентов с диабетической стопой и полирезистентной инфекцией.

8.4. Сроки возникновения рецидивов трофических язв в отдаленном периоде

Оценка сроков возникновения рецидивов трофических язв проводилась в трех временных интервалах: с 1-го по 3-й месяц, с 3-го по 6-й месяц и с 6-го месяца до 1 года после начала лечения. Основным анализируемым показателем стала частота рецидивов в каждом из этих периодов.

Таблица 8.1

Сроки возникновения рецидивов трофических язв в группах пациентов с синдромом диабетической стопы (период наблюдения — 1 год)

Период наблюдения	Группа 1 (комбинированный алгоритм, n = 191)	Группа 2 (стандартная терапия, n = 178)	Уровень значимости
1–3 месяца, абс. (%)	4 (2,1%)	5 (2,8%)	p = 0,745
3–6 месяцев, абс. (%)	24 (12,6%)	49 (27,5%)	p < 0,001
От 6 месяцев до 1 года, абс. (%)	53 (27,7%)	84 (47,2%)	p = 0,001
Без рецидива	110 (57,6%)	40 (22,5%)	p < 0,001

Анализ отдалённых результатов показал принципиальные различия между группами. В первые три месяца частота рецидивов была практически одинаковой — 2,1% (4 случая) в первой группе и 2,8% (5 случаев) во второй (p = 0,745). Это вполне ожидаемо: на раннем этапе в обеих группах проводилась агрессивная хирургическая обработка и системная антимикробная терапия, что определяет сходный начальный ответ на лечение.

Наиболее значимые различия проявились в критический период с 3-го по 6-й месяц. В группе комбинированного алгоритма рецидивы возникли у 24 пациентов (12,6%), тогда как в группе стандартной терапии — у 49 (27,5%). Разница составила 14,9% (p < 0,001). Этот результат особенно важен, поскольку именно в этот период обычно происходит декомпенсация тканевой трофики и возобновление язвенного процесса. Полученные данные свидетельствуют о более стабильном лечебном эффекте разработанного подхода, связанном, на наш взгляд, с успешным устранением патологического венозного рефлюкса, улучшением микроциркуляции и выраженным антиоксидантным действием цитофлавина.

В течение первого года частота рецидивов в первой группе составила 27,7% (53 пациента), во второй — 47,2% (84 пациента), с разницей 19,5% (p = 0,001). Особенно показательным является доля пациентов, полностью избежавших рецидива в течение года: 57,6% (110 человек) в группе

комбинированного лечения против 22,5% (40 человек) в группе сравнения ($p < 0,001$).

Таким образом, разработанный комбинированный алгоритм, включающий таргетную бактериофаготерапию, физические методы санации (НТАП), эндоваскулярную лазерную коагуляцию, метаболическую поддержку цитофлавином и ранние реконструктивно-пластические вмешательства, продемонстрировал явное преимущество перед стандартной терапией.

В результате достигнуто:

- значимое снижение частоты рецидивов в наиболее опасный период 3–6 месяцев;
- более чем двукратное увеличение доли пациентов с длительным безрецидивным течением;
- снижение общей кумулятивной частоты рецидивов к концу первого года наблюдения.

Увеличение безрецидивного периода у пациентов с тяжёлыми формами СДС напрямую снижает риск прогрессирования инфекции, повторных госпитализаций и риск высоких ампутаций.

Полученные данные убедительно подтверждают, что комплексное воздействие на основные звенья патогенеза (микробный фактор, нарушения гемодинамики, метаболические расстройства и локальная тканевая деструкция) позволяет не только добиться заживления язв, но и существенно изменить отдалённый прогноз заболевания.

Таким образом, применение разработанного комбинированного алгоритма лечения обеспечивает статистически значимое и клинически важное улучшение отдалённых результатов у пациентов с трофическими язвами на фоне синдрома диабетической стопы. Это обосновывает целесообразность его более широкого внедрения в клиническую практику, особенно у больных с полирезистентной инфекцией и сочетанной хронической венозной недостаточностью.

ГЛАВА 9. ОРГАНИЗАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ПАЦИЕНТАМ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ И ПОЛИРЕЗИСТЕНТНОЙ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Этапы исследования включали разработку организационно-методических подходов оказания медицинской помощи пациентам с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной раневой инфекцией и разработку научно-обоснованного комплексного алгоритма диагностики и лечения пациентов с диабетической стопой и полирезистентной раневой инфекцией, основанный на индивидуальном подходе.

Важным элементом направления работы является разработка организационно-методических аспектов оказания медицинской помощи пациентам с СДС и ПРМ на всех этапах - от первичного скрининга в поликлинике до хирургического вмешательства и долгосрочной амбулаторной реабилитации.

Предмет исследования: организационно-методические особенности оказания медицинской помощи данной категории пациентов, включая маршрутизацию, взаимодействие мультидисциплинарных команд, диагностику, выбор тактики лечения и профилактику рецидивов.

Для оценки организационно-методических аспектов оказания медицинской помощи проведен анализ действующих нормативно-правовых документов, клинических рекомендаций и стандартов оказания помощи при СДС, а также оценка координации между различными уровнями здравоохранения - первичным звеном, амбулаторными центрами диабетической стопы и стационарными отделениями. Изучались проблемы маршрутизации пациентов, сроки постановки диагноза, наличие мультидисциплинарных команд.

Таким образом, полученный материал позволил всесторонне оценить текущее состояние организации медицинской помощи пациентам с СДС и

полирезистентной раневой инфекцией, выявить ключевые проблемы и предложить организационно-методические подходы медицинской помощи.

9.1. Проблемы догоспитального этапа и пути их решения

9.1. 1. Анализ социально-экономических детерминант течения СДС

Анализ медико-социальных характеристик пациентов, включённых в исследование, демонстрирует статистически значимую дифференциацию между когортами пациентов с верифицированной полирезистентной микрофлорой (ПРМ+) и контрольной группой (ПРМ–) по комплексу демографических, социально-экономических и поведенческих детерминант, что требует учета при проектировании дифференцированных моделей организации медицинской помощи.

Эти данные подтверждают, что течение синдрома диабетической стопы определяется не только клиническими, но и системными социально-экономическими факторами, которые оказывают прямое влияние на доступность медицинской помощи, приверженность лечению и исход заболевания.

Таблица 9.1

Медико-социальная характеристика пациентов с СДС (1-ПРМ+ и 2-ПРМ–)

Компонент медико-социальной характеристики	группа 1 (ПРМ+, n=257)	группа 2 (ПРМ-, n=250)	Р-значение
Пол:			
- Мужчины	102 (39,7%)	97 (38,8%)	p = 0,841
- Женщины	155 (60,3%)	153 (61,2%)	
Средний возраст, лет	50,6 ± 1,8	49,8 ± 1,6	p = 0,123
Социальный статус (трудовая активность):			
- Трудоустроен	68 (26,5%)	92 (36,8%)	p = 0,008
- Нетрудоспособные	189 (73,5%)	158 (63,2%)	

Компонент медико-социальной характеристики	группа 1 (ПРМ+, n=257)	группа 2 (ПРМ-, n=250)	Р-значение
Уровень образования:			
- Среднее	142 (55,3%)	118 (47,2%)	p = 0,045
- Среднее специальное/высшее	115 (44,7%)	132 (52,8%)	
Проживание в городской местности	234 (91,1%)	227 (90,8%)	p = 0,926
Отсутствие близкого социального окружения	60 (23,3%)	42 (16,8%)	p = 0,049

Примечание: p-значения рассчитаны с использованием χ^2-критерия Пирсона для категориальных данных и t-критерия Стьюдента для количественных показателей. Различия считаются достоверными при $p < 0,05$.

1. Гендерное распределение и возраст.

По полу группы были сопоставимы: преобладание женщин отмечено в обеих группах (60,3% в ПРМ+ и 61,2% в ПРМ–), p = 0,841. Средний возраст также не имел достоверных различий (50,6 ± 1,8 года против 49,8 ± 1,6 года, p = 0,123). Это указывает на то, что пол и возраст сами по себе не являются определяющими факторами развития полирезистентной инфекции, однако высокая доля женщин требует внимания к гендерным аспектам ухода за стопами, включая особенности подбора обуви и частоту самообследования.

2. Социальный статус и трудовая активность.

Наиболее значимым различием является низкий уровень трудовой активности в группе ПРМ+: только 26,5% пациентов работали, против 36,8% в группе ПРМ– ($\chi^2 = 6,98$, p = 0,008). Это свидетельствует о более тяжёлом общем состоянии, связанном с потерей трудоспособности, хроническими осложнениями и инвалидизацией. Отсутствие работы ограничивает доступ к дополнительным ресурсам, включая платные услуги, ортопедическую обувь и средства ухода.

3. Уровень образования.

Уровень образования оказался достоверно ниже в группе ПРМ+: 55,3% пациентов имели образование среднее против 47,2% в группе ПРМ– (p = 0,045). Низкая грамотность затрудняет понимание рекомендаций по

самоконтролю, уходу за стопами и распознаванию ранних признаков повреждений. Это увеличивает риск уменьшения примения профилактических средств.

4. Социальная изоляция.

Особую тревогу вызывает показатель социальной изоляции: у 23,3% пациентов с ПРМ+ отмечалось отсутствие близкого окружения, способного оказать помощь в уходе, против 16,8% в группе ПРМ– (p = 0,049). Эта категория пациентов особенно уязвима: они реже осматривают стопы, не могут своевременно заметить травму и чаще игнорируют начальные симптомы. Социальная изоляция приводит к более поздним обращениям за медицинской помощью и худшими исходами.

Таким образом, пациенты с полирезистентной инфекцией характеризуются более неблагоприятным социально-экономическим статусом: они реже работают, имеют более низкий уровень образования и чаще находятся в состоянии социальной изоляции.

Эти факторы достоверно связаны с худшим метаболическим контролем, меньшей приверженностью к лечению и повышенным риском рецидивов.

9.1.2. Особенности организации эндокринологического наблюдения у пациентов с СДС и полирезистентной раневой инфекцией

Эндокринологическое сопровождение выступает неотъемлемым компонентом мультидисциплинарного подхода к ведению пациентов с СДС. Эффективное лечение синдрома диабетической стопы невозможно без строгой компенсации углеводного обмена [143].

Анализ данных показал существенные различия в частоте посещений эндокринолога между пациентами с полирезистентной инфекцией и без неё (см. таблица 9.2).

Таблица 9.2

Частота посещений эндокринолога

Категория наблюдения	группа 1 (ПРМ+, n = 257)	группа 2 (ПРМ–, n = 250)	p-значение
Регулярное наблюдение (≥1 раз в 3 мес.)	80 (31,1%)	110 (44,0%)	0,003
Эпизодические визиты (1 раз в 6–12 мес.)	109 (42,4%)	96 (38,4%)	0,383
Не наблюдался у эндокринолога	68 (26,5%)	44 (17,6%)	0,037

Анализ частоты посещений эндокринолога у пациентов с синдромом диабетической стопы выявил достоверные различия в организации амбулаторного наблюдения между группами с полирезистентной (ПРМ+) и без признаков высокой резистентности (ПРМ–) микрофлорой. Согласно полученным данным, регулярное наблюдение у эндокринолога (не реже одного раза в три месяца) отмечалось у 80 пациентов (31,1%) в группе ПРМ+ и у 110 пациентов (44,0%) в группе ПРМ–. Статистическая обработка подтвердила достоверность этих различий ($p = 0,003$), что указывает на значимое снижение доли пациентов, систематически находящихся под эндокринологическим контролем, в группе с более тяжёлым инфекционным процессом.

Частота эпизодических визитов (один раз в 6–12 месяцев) составила 109 случаев (42,4%) среди пациентов с ПРМ+ и 96 случаев (38,4%) в группе ПРМ–. Расчёт показал, что данное различие не является статистически значимым ($p = 0,383$), свидетельствуя о схожей степени фрагментированности медицинской помощи в этой категории.

Наиболее тревожным фактом стало значительно более частое отсутствие какого-либо наблюдения у эндокринолога в группе ПРМ+: 68 пациентов (26,5%) против 44 (17,6%) в группе ПРМ–. Этот показатель также достиг уровня статистической значимости ($p = 0,037$), подчёркивая, что пациенты с полирезистентной инфекцией не только реже проходят плановые осмотры, но и чаще вообще выпадают из системы диспансерного учёта.

Таблица 9.3

Инсулинотерапия

Категория наблюдения	группа 1 (ПРМ+, n = 257)	группа 2 (ПРМ–, n = 250)	p-значение
Назначение инсулина (всех форм)	77,8% (200 из 257)	66,4% (166 из 250)	p = 0,003
Необходимость в интенсивной инсулинотерапии (ИИТ)	68,5% (176 из 257)	52,0% (130 из 250)	p < 0,001

Анализ инсулинотерапии (см. таблицу 9.3) выявил статистически значимые различия в тактике ведения пациентов между сравниваемыми группами. В группе пациентов с полирезистентной микрофлорой (ПРМ+) достоверно чаще применялась инсулинотерапия в различных формах - у 77,8% пациентов против 66,4% в группе ПРМ– (p=0,003). Кроме того, в группе ПРМ+ значимо выше была потребность в интенсивной инсулинотерапии (ИИТ) - 68,5% против 52,0% соответственно (p < 0,001). Выявленные особенности должны учитываться при планировании ресурсного обеспечения и организации лечебного процесса в отделениях диабетической стопы, поскольку пациенты с ПРМ+ требуют значительного интенсивного и затратного медикаментозного лечения в связи с более выраженной тяжестью течения СД.

Таблица 9.4

Контроль гликемии

Категория наблюдения	группа 1 (ПРМ+, n = 257)	группа 2 (ПРМ–, n = 250)	p-значение
Средний уровень HbA1c (%)	8,9 ± 1,4	7,6 ± 1,1	p < 0,001
Частота декомпенсации (HbA1c ≥ 7.5%)	79,7% 95% ДИ: 74,5–84,3%	67,6% 95% ДИ: 61,5–73,3%	p = 0.002
Целевой уровень HbA1c (<7,5%) достигнут	51 (19,8%)	104 (41,6%)	p < 0,001

Различия статистически значимы. У пациентов с ПРМ+ не только выше средний уровень HbA1c, но и значительно чаще наблюдается длительная декомпенсация, что создаёт основу для хронизации инфекционного процесса.

Полученные данные (см. таблицу 9.4) свидетельствуют о неэффективности существующей системы эндокринологического сопровождения и требуют ее реорганизации.

Таким образом, пациенты с ПРМ+ достоверно реже находятся под регулярным эндокринологическим контролем, несмотря на более тяжёлое

течение сахарного диабета, что создаёт порочный круг: хроническая гипергликемия способствует прогрессированию язвенного дефекта и формированию полирезистентной флоры, в то время как недостаточное наблюдение препятствует коррекции метаболических нарушений и эффективному лечению.

9.1.3. Влияние метаболического контроля на частоту рецидивов и заживление при синдроме диабетической стопы

Проведенный анализ наглядно демонстрирует прямую зависимость клинических исходов от уровня метаболического контроля. У пациентов, находящихся под регулярным наблюдением эндокринолога и достигающих целевого уровня гликемии с показателем HbA1c ниже 7,5%, частота рецидивов в течение шести месяцев составляет 12,8%, а среднее время заживления язвенных дефектов не превышает 26 ± 3 дня. В противоположность этой группе, пациенты без системного контроля, имеющие уровень HbA1c ≥ 8,5% и редкие визиты к врачу, сталкиваются с рецидивами в 85% случаев, а процесс заживления у них протекает значительно медленнее, составляя 42 ± 5 дней ($p < 0,01$).

Выявленные данные указывают на парадоксальную и клинически тревожную ситуацию: пациенты с наиболее тяжёлыми формами СДС и полирезистентными инфекциями, объективно нуждаются в максимальном метаболическом контроле. Среди ключевых причин сложившейся ситуации следует отметить фрагментированность медицинской помощи, выражающуюся в отсутствии координации между хирургом и эндокринологом, а также отсутствие специальных координаторов («диабет-навигаторов»), обеспечивающих преемственность между уровнями помощи. К числу системных ограничений относятся низкая комплаентность пациентов, обусловленная в том числе социальной депривацией, а также дефицит временных ресурсов медицинского персонала для реализации

образовательных программ по формированию навыков самоконтроля у пациентов.

9.1.4. Оценка обеспеченности пациентов средствами ортопедической разгрузки в зависимости от наличия полирезистентной раневой инфекции

Одним из ключевых компонентов профилактики рецидивов и ускорения заживления трофических язв при СДС является адекватная разгрузка поражённой зоны стопы. Применение ортопедических стелек, специальной обуви, разгружающих повязок (Scotchcast, total contact casting) и пневмоортезов позволяет снизить давление на очаг поражения, предотвратить прогрессирование некроза и создать условия для регенерации тканей [158, 214].

В рамках настоящего исследования была проведена оценка обеспеченности двух клинически значимых групп пациентов различными видами ортопедической помощи в зависимости от наличия или отсутствия полирезистентной микробной флоры (ПРМ+ / ПРМ-).

Таблица 9.5

Частота применения различных видов ортопедической помощи у пациентов с СДС в зависимости от наличия полирезистентной инфекции

Вид ортопедической помощи	группа 1 (ПРМ+) n = 257	группа 2 (ПРМ–) n = 250	χ^2	p-значение
Индивидуальные ортопедические стельки	62 (24,1%)	78 (31,2%)	3,86	p = 0,049
Специальная обувь по индивидуальной колодке	12 (4,7%)	10 (4,0%)	0,11	p = 0,740
Разгрузочные устройства Total Contact Casting (Scotchcast, TCC)	10 (3,9%)	9 (3,6%)	0,04	p = 0,841
Методы разгрузки (AirCast, пневмоортезы)	11 (4,3%)	14 (5,6%)	0,31	p = 0,578
Не проводилась ортопедическая коррекция	162 (63,0%)	139 (55,6%)	3,12	p = 0,077
ВСЕГО	257 (100%)	250 (100%)		

Примечание: p-значения рассчитаны с использованием χ^2-критерия Пирсона.

Наиболее существенным и статистически значимым различием явилась меньшая частота назначения индивидуальных ортопедических стелек пациентам с полирезистентной инфекцией (24,1% против 31,2%, $\chi^2 = 3,86$, $p = 0,049$) (см. таблицу 9.5). Это свидетельствует о том, что пациенты с наиболее тяжёлыми формами СДС и хроническими инфекциями получают базовые средства разгрузки достоверно реже, несмотря на повышенную потребность в них.

Особую тревогу вызывает тот факт, что полная ортопедическая коррекция не проводилась у 162 пациентов (63,0%) в группе ПРМ+ и у 139 (55,6%) в группе ПРМ–. Хотя различие близко к порогу значимости ($p = 0,077$), оно указывает на существенный дефицит помощи. Отсутствие системного подхода к разгрузке стопы создаёт благоприятные условия для повторного травмирования, хронизации язвенного процесса и формирования полирезистентной инфекции.

Таким образом, более чем у 60% пациентов с СДС, особенно с тяжёлыми формами инфекции, не реализован ключевой элемент вторичной профилактики - ортопедическая разгрузка. Это является прямым следствием фрагментированности системы здравоохранения, недостатка финансирования и отсутствия единых стандартов маршрутизации пациентов в специализированные центры диабетической стопы.

Пациенты с полирезистентной раневой инфекцией имеют заметно более высокий уровень гликированного гемоглобина, чем у пациентов контрольной группы. Частота декомпенсации углеводного обмена ($HbA1c \geq 7,5\%$) в группе ПРМ+ достигает 79,7%, превышая аналогичный показатель в группе без полирезистентности на 12,1 %, что создает условия для персистенции микроорганизмов, формирования биопленок и прогрессирования инфекционного процесса.

Несмотря на более частое назначение инсулинотерапии в группе ПРМ+ (77,8% против 66,4%), целевой уровень HbA1c удается достичь лишь у 19,8% пациентов, что значительно ниже показателя группы ПРМ– (41,6%, $p < 0,001$). Это расхождение указывает на несоответствие между интенсивностью

терапевтического вмешательства и его клинической эффективностью, свидетельствуя о недостатках в стратегии коррекции гликемии.

Выявлено нарушение регулярности диспансерного наблюдения у эндокринолога в группе ПРМ+: только 31,1% пациентов посещают врача ежеквартально, против 44,0% в группе ПРМ– (p=0,002). В отдельных случаях, время ожидания консультации превышает 6 месяцев, что свидетельствует о системных дефектах организации медицинской помощи.

Нарушение преемственности диспансерного наблюдения напрямую коррелирует с негативными исходами: при отсутствии системного контроля частота рецидивов достигает 85% против 12,8% при регулярном наблюдении (6,6-кратная разница).

Результаты подтверждают необходимость реорганизации системы диспансерного наблюдения с усилением метаболического контроля и преемственности между этапами оказания помощи.

Полученные данные свидетельствуют о более тяжелом течении сахарного диабета и выраженной инсулинорезистентности у пациентов с полирезистентной раневой инфекцией.

Важным фактором является недостаточная разгрузка стопы которая способствует хронизации раневого процесса и создаёт благоприятные условия для формирования биоплёнок и развития полирезистентных штаммов [226]. Таким образом, отсутствие своевременной ортопедической помощи выступает не только как следствие тяжёлого течения СДС, но и как фактор риска прогрессирования инфекционного процесса.

Проведённый анализ свидетельствует о наличии системных пробелов в организации ортопедического компонента помощи пациентам с СДС. Пациенты с полирезистентной инфекцией, которые наиболее часто нуждаются в разгрузке достоверно реже получают индивидуальные ортопедические стельки (p = 0,049), что отражает дисбаланс в распределении ресурсов и недостаточную проработку протоколов мультидисциплинарного ведения.

Для повышения эффективности лечения необходимо:

- внедрение обязательных стандартов назначения разгрузочных средств;
- создание ортопедических кабинетов при центрах диабетической стопы;
- включение ТСС и пневмоортезов в перечни жизненно необходимых изделий;
- обучение пациентов правилам самоконтроля и ухода за стопами.

Только комплексный, непрерывный подход позволит снизить частоту рецидивов, минимизировать риск ампутаций и улучшить качество жизни больных сахарным диабетом.

Результаты исследования демонстрируют, что лечение пациентов с СДС и ПРМ требует не просто медицинских вмешательств, а реорганизации всей системы оказания помощи, основанной на принципах доказательной медицины, социальной гигиены и управления качеством.

Заключение

Проведённое исследование организационно-методических аспектов оказания медицинской помощи пациентам с синдромом диабетической стопы (СДС), осложнённым полирезистентной раневой инфекцией, позволило всесторонне оценить текущее состояние организации медицинской помощи пациентам данного профиля в контексте управления данной профильной патологией. Анализ выявил системные дефекты догоспитального этапа наблюдения, что требует не частичных корректировок, а фундаментальной реструктуризации подхода к организации помощи.

Ключевым выводом исследования является подтверждение того, что развитие полирезистентной инфекции у пациентов с СДС определяется не только клиническими параметрами, но и глубоко укоренёнными социально-экономическими детерминантами. Пациенты с полирезистентной инфекцией (ПРМ+) достоверно чаще характеризуются низким уровнем трудовой занятости (26,5% против 36,8%, p = 0,008), образованием на уровне среднего (55,3% против 47,2%, p = 0,045) и социальной изоляцией (23,3% против 16,8%, p = 0,049). Эти факторы образуют замкнутый порочный круг: социальное неблагополучие → ограничение доступа к качественной

медицинской помощи → хронизация язвенного процесса → инвалидизация → дальнейшее усугубление социальной дезадаптации. Это обуславливает необходимость перехода от чисто клинической к социально-медицинской модели, при которой лечение выступает в качестве компонента комплексной социальной поддержки.

На уровне системы организации оказания медицинской помощи пациентам с СДС выявлены критические нарушения. Фрагментация эндокринологического наблюдения: лишь 31,1% пациентов с ПРМ+ находятся под регулярным контролем (≥1 раз в 3 месяца) против 44,0% в группе без признаков резистентности ($p = 0,002$). Недостаточная обеспеченность ортопедическими средствами: индивидуальные стельки получали 24,1% пациентов с ПРМ+ против 31,2% в группе ПРМ– ($p = 0,049$). Отсутствие преемственности между уровнями помощи: слабая маршрутизация, задержки постановки диагноза.

9.2 Обоснование необходимости изменения системы маршрутизации пациентов с синдромом диабетической стопы и полирезистентной инфекцией

Проведенное исследование демонстрирует неэффективность существующей системы маршрутизации пациентов с СДС, осложненным полирезистентной инфекцией (ПРМ+), что требует пересмотра организационных подходов.

На основании полученных данных определены текущие проблемы системы маршрутизации пациентов. Обоснована необходимость перехода от унифицированной к дифференцированной системе маршрутизации с учётом медико-социального профиля пациента.

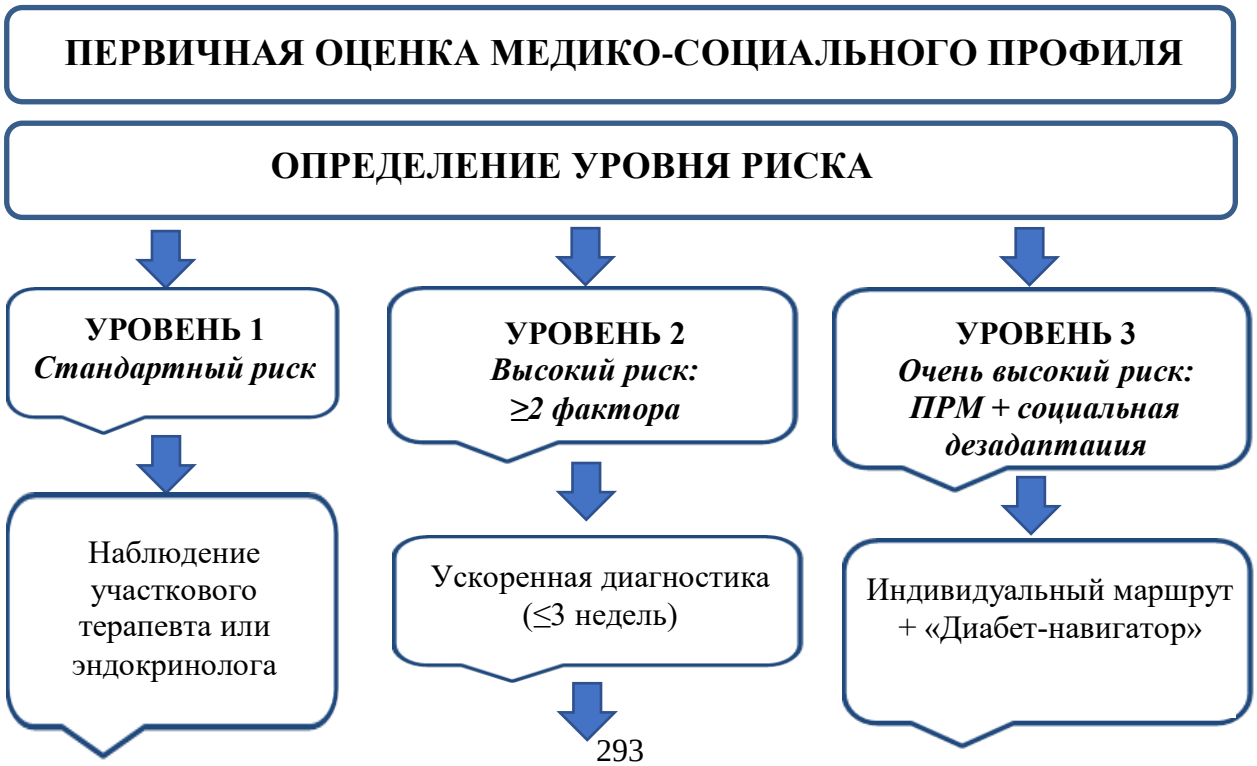
Критический анализ сложившейся практики привёл нас к выводу о банальной, но жёсткой закономерности: унифицированная маршрутизация, не учитывающая ничего, кроме факта наличия язвы, характеризуется низкой эффективностью. Пациент с компенсированным течением сахарного диабета, проживающий в семье и имеющий стабильный доход, и пациент с

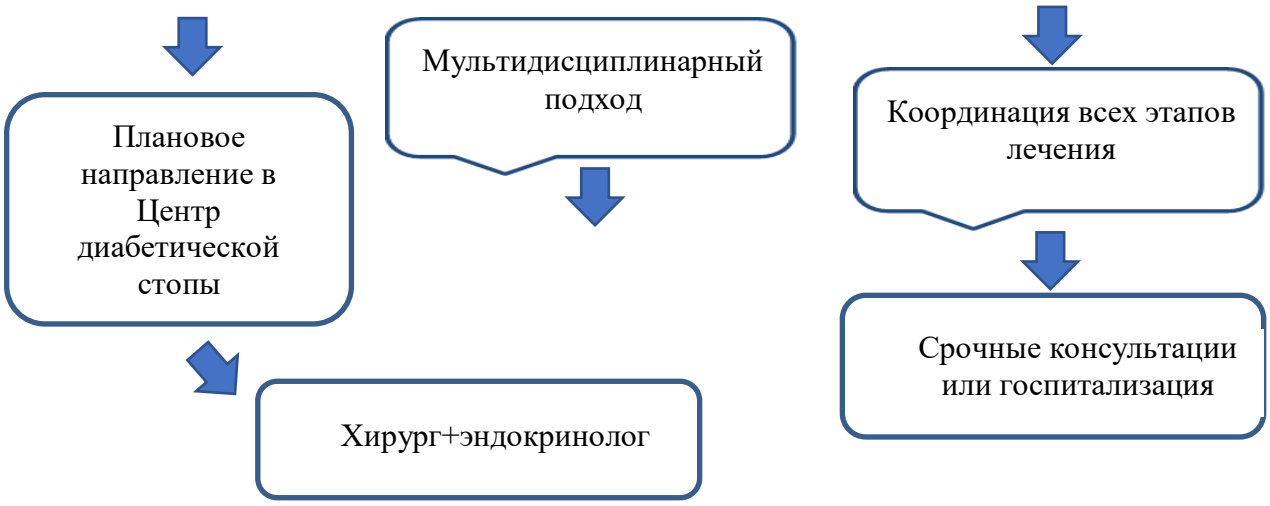
длительной декомпенсацией углеводного обмена, хронической раневой инфекцией и отсутствием социальной поддержки при существующей системе маршрутизации получают идентичную тактику ведения с равными сроками ожидания специализированной помощи. Подобный подход неизбежно ведёт к необоснованной задержке оказания помощи первой категории пациентов с сохранённым потенциалом заживления и к неизбежному прогрессированию патологического процесса вплоть до критической ишемии и гангрены с последующей высокой ампутацией - у второй категории.

Иными словами, унифицированная система обрекает социально благополучных пациентов на потерю времени, а социально дезадаптированных - на потерю конечности.

Выход из этой ситуации видится в переходе к трехуровневой системе маршрутизации, где траектория движения пациента определяется не формальным диагнозом, а реальным сочетанием клинических и социальных рисков. Соответствующая модель представлена на рисунке 9.1.

Рисунок 9.1. Трехуровневая система маршрутизации пациентов с синдромом диабетической стопы





Предлагается внедрение трехуровневой системы, где пациенты стандартного риска (социально адаптированные с компенсированным СД) сохраняют существующие маршруты, пациенты высокого риска (с ≥2 социальными факторами риска) направляются по ускоренной диагностике (≤3 недель) с обязательным мультидисциплинарным подходом, а пациенты очень высокого риска (ПРМ+ в сочетании с социальной дезадаптацией) получают индивидуальный маршрут с назначением "диабет-навигатора".

Одним из ключевых элементов эффективного управления пациентами с синдромом диабетической стопы (СДС), осложнённым полирезистентной инфекцией, является система маршрутизации, обеспечивающая своевременный доступ к специализированной помощи. Анализ текущей практики показывает, что существующая унифицированная модель маршрутизации, не учитывающая индивидуальные клинические и социально-экономические особенности пациента, является одним из основных факторов, обуславливающих задержки в диагностике, неэффективность лечения и высокий риск рецидивов.

В основе предложенной модели лежит формализованная оценка медико-социального профиля пациента уже на этапе первичного обращения в поликлинику (в кабинете участкового терапевта или эндокринолога) при выявлении язвенного дефекта заполняется скрининговая карта.

Критерии распределения по уровням риска

Распределение пациентов осуществляется на этапе первичного обращения в амбулаторно-поликлиническое учреждение на основании комплексной оценки, включающей три блока параметров:

1. Клинические критерии:
    - наличие верифицированной полирезистентной микрофлоры (ПРМ+);
    - уровень HbA1c (целевой <7,5%; субкомпенсация 7,5–8,4%; декомпенсация ≥8,5%);
    - стадия раневого дефекта по классификации WIFI (I–III).
2. Социально-экономические критерии:
    - трудовая занятость (работает / не работает / инвалид);
    - уровень образования (высшее/среднее специальное / среднее и ниже);
    - наличие близкого окружения, способного оказать помощь в уходе.
3. Поведенческие критерии:
    - приверженность диспансерному наблюдению (регулярные визиты не реже 1 раза в 3 месяца / эпизодические / отсутствие наблюдения);
    - наличие навыков самоконтроля и ухода за стопами.

На основании совокупности этих факторов пациент относится к одному из трёх уровней, для каждого из которых определён собственный маршрут.

Единой точкой входа для всех пациентов является первичное звено системы - кабинет участкового терапевта или эндокринолога, где при выявлении язвенного дефекта любой локализации заполняется скрининговая карта, и пациент направляется в кабинет «Диабетическая стопа» (при его отсутствии - к хирургу поликлиники) для углублённой оценки и принятия решения о маршрутизации.

Характеристика уровней маршрутизации

Уровень 1 - Пациенты стандартного риска

Критерии включения: социально адаптированные (трудоустроены, имеют поддержку) с компенсированным сахарным диабетом (HbA1c <7,5%), без признаков полирезистентной инфекции и регулярно (не реже 1 раза в 3 месяца) наблюдающиеся у эндокринолога.

Маршрут движения: пациент остаётся под наблюдением участкового терапевта и эндокринолога по месту жительства. При наличии язвенного дефекта - плановое направление в центр диабетической стопы для коррекции

лечения и подбора ортопедических средств. Допустимый срок ожидания консультации - до 14 рабочих дней.

Точка выхода из маршрута: достижение заживления язвенного дефекта с переводом на стандартное диспансерное наблюдение по основному заболеванию.

Уровень 2 - Пациенты высокого риска

Критерии включения: наличие двух и более социальных факторов риска (нетрудоустроенность, низкий уровень образования, социальная изоляция) ИЛИ декомпенсированный сахарный диабет (HbA1c ≥8,5%) независимо от социального статуса. Наличие полирезистентной инфекции не является обязательным, но может присутствовать.

Маршрут движения: ускоренная диагностическая маршрутизация. Пациент направляется в центр диабетической стопы для мультидисциплинарного консультирования (хирург + эндокринолог + инфекционист) в срок не более 3 рабочих дней с момента обращения. В центре проводится обследование, включающее микробиологический контроль с определением чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, ультразвуковую допплерографию сосудов нижних конечностей, оценку уровня HbA1c и других метаболических показателей.

Точки выхода из маршрута:

- при стабилизации состояния и отсутствии ПРМ+ - возврат на уровень 1 (визиты 1 раз в 1–2 месяца);
- при выявлении ПРМ+, прогрессировании язвенного дефекта или неэффективности амбулаторного лечения - перевод на уровень 3 с решением вопроса о госпитализации.

Уровень 3 - Пациенты очень высокого риска

Критерии включения: сочетание социальной дезадаптации (одиночество, отсутствие работы, низкий уровень образования, отсутствие близкого окружения), рецидивирующие язвы с верифицированной полирезистентной инфекцией (ПРМ+). Дополнительными критериями являются наличие осложнённых форм (глубокие язвы с поражением костных структур, флегмоны, остеомиелит) и/или неэффективность лечения на предыдущих уровнях.

Маршрут движения: индивидуальный маршрут ведения с обязательным назначением персонального координатора - «диабет-навигатора». Пациент в приоритетном порядке госпитализируется в специализированное отделение гнойной хирургии. Навигатор сопровождает пациента на всех этапах: координирует сроки госпитализации и взаимодействие между специалистами, контролирует выполнение рекомендаций после выписки, взаимодействует с социальными службами для решения бытовых проблем и обеспечения льготными ортопедическими изделиями и средствами ухода, проводит обучение пациента навыкам самоконтроля.

Точка выхода из маршрута: достижение стойкой клинической ремиссии с заживлением язвенного дефекта и переводом на пожизненное диспансерное наблюдение по индивидуальному плану, предусматривающему обязательные контрольные визиты не реже 1 раза в 3 месяца с проведением микробиологического мониторинга и ультразвуковой допплерографии.

Механизм перехода между уровнями

Система предусматривает динамическое наблюдение за пациентом и возможность изменения уровня риска при изменении его клинического или социального статуса:

- при ухудшении показателей гликемии, выявлении ПРМ+ или появлении социальных проблем пациент может быть переведён с уровня 1 на уровень 2;
- при неэффективности лечения на уровне 2, прогрессировании инфекционного процесса или ухудшении социального статуса — перевод на уровень 3;
- при успешном лечении, достижении стабильной компенсации диабета и улучшении социальной адаптации возможен обратный перевод с уровня 3 на уровень 2, а затем на уровень 1.

Критерии перехода фиксируются в электронном паспорте пациента и автоматически отслеживаются ответственным специалистом (заведующим отделением, диабет-навигатором). Решение о переходе принимается мультидисциплинарной комиссией с обязательным участием хирурга и эндокринолога.

Важная особенность модели - её динамичность. Уровень риска не является раз и навсегда заданным. При ухудшении гликемического контроля, появлении полирезистентной флоры или нарастании социального неблагополучия пациент может быть переведён с первого уровня на второй, а при неэффективности лечения - далее на третий. Возможен и обратный переход. Критерии перехода фиксируются в электронном паспорте пациента, решение принимает мультидисциплинарная комиссия с обязательным участием хирурга и эндокринолога.

Таким образом, разработанная система превращает маршрутизацию из статичной процедуры в гибкий управленческий инструмент, учитывающий не только текущее клиническое состояние, но и жизненный контекст пациента, а также динамику его заболевания.

На основании проведенного исследования выявлены следующие системные проблемы:

1. Длительные сроки постановки диагноза. Среднее время от момента обращения пациента до окончательной постановки диагноза составляет до 6 недель. Это критически важно, так как при тяжелых формах СДС каждые дни задержки могут привести к прогрессированию инфекции, формированию гангрены и необходимости ампутации.

2. Отсутствие четкой алгоритмизации взаимодействия между уровнями здравоохранения. Разобщённость действий врачей первичного звена, центров диабетической стопы и стационаров приводит к потере данных, повторным обследованиям и несвоевременному началу адекватной терапии.

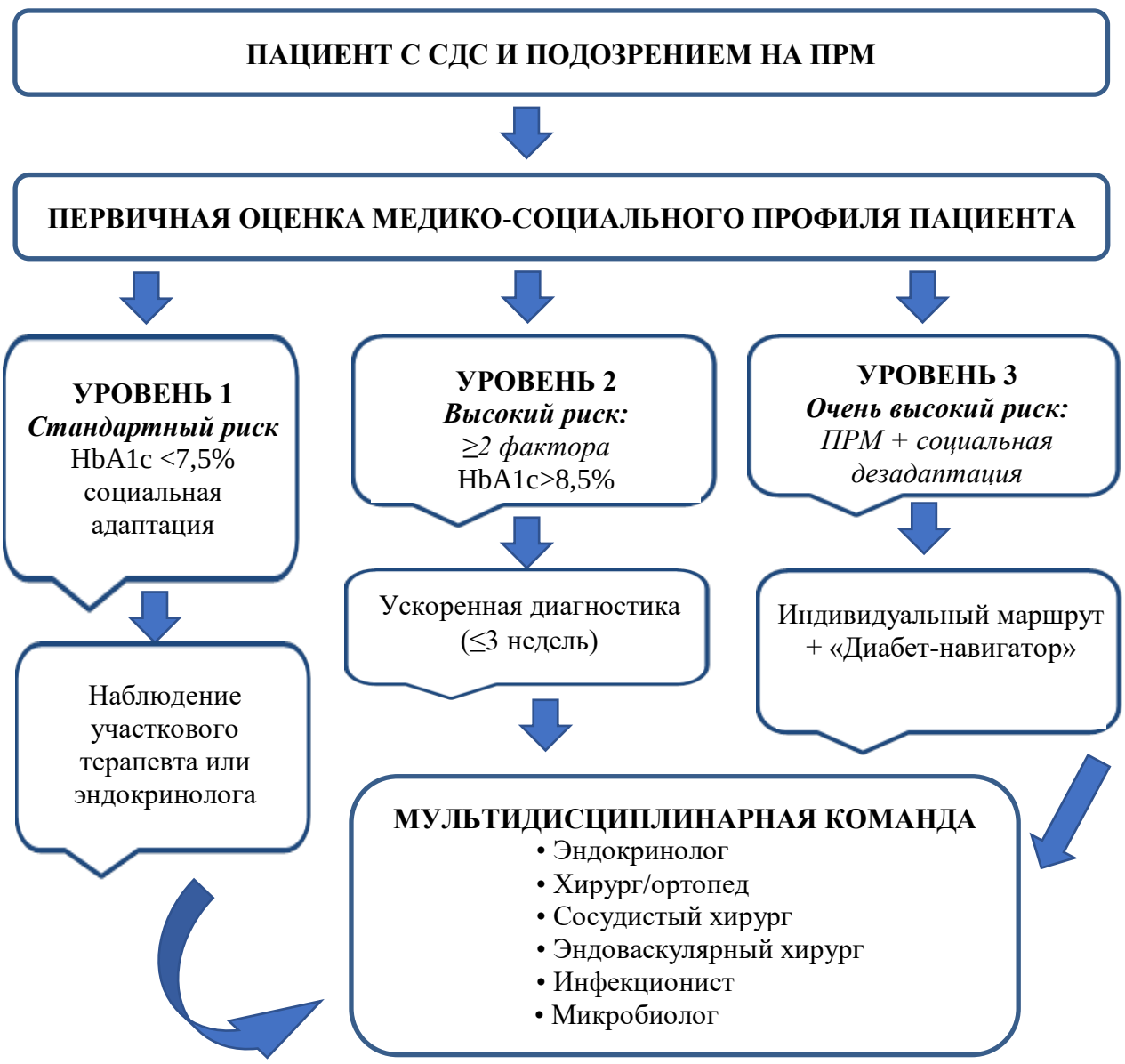
3. Недостаточная информированность врачей первичного звена. Многие участковые терапевты и эндокринологи не владеют современными алгоритмами диагностики СДС и критериями срочной маршрутизации в специализированные центры, что особенно опасно при наличии полирезистентной инфекции, требующей быстрой реакции и таргетной антибиотикотерапии.

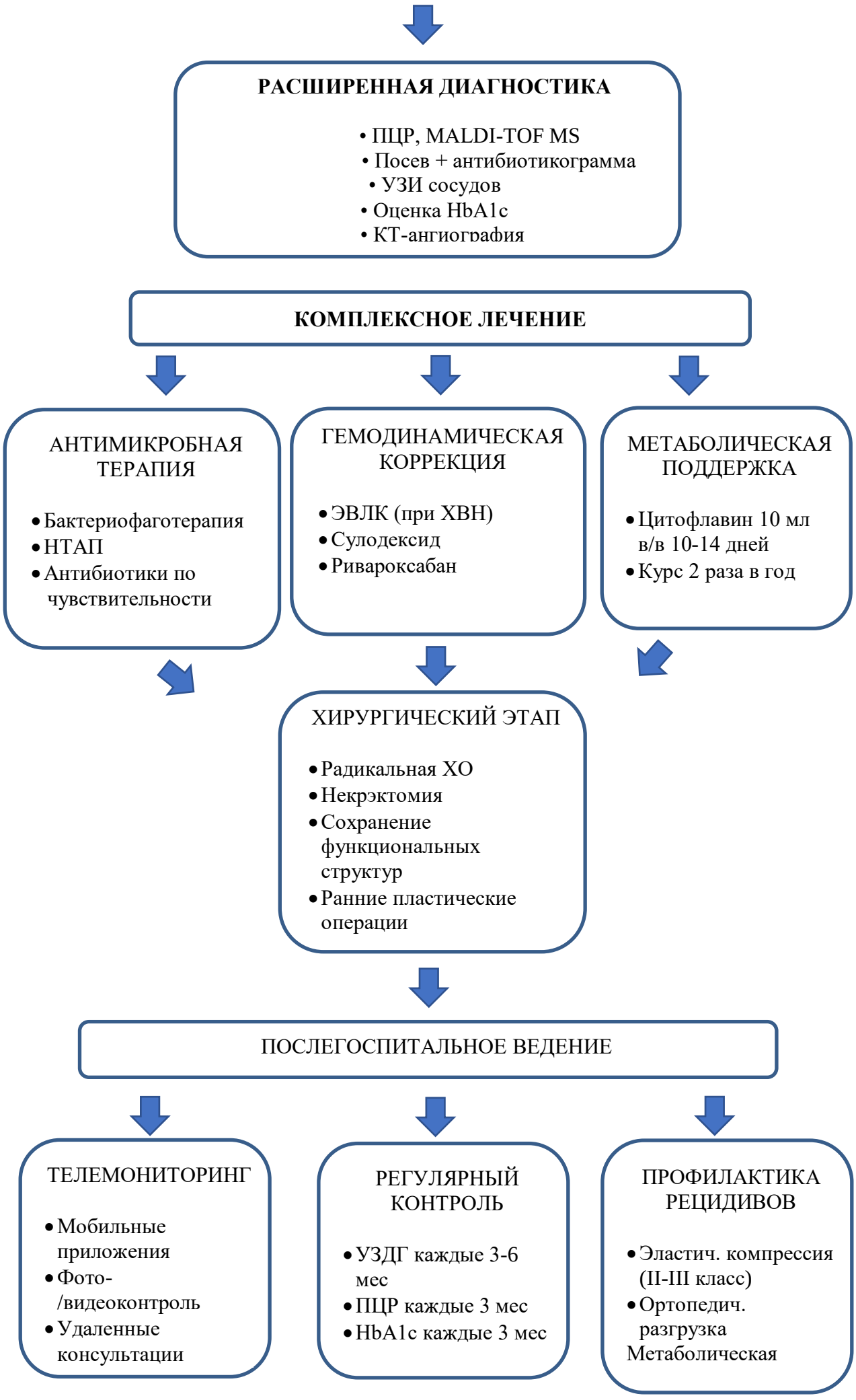
Для решения этих проблем предлагается переход от унифицированной модели к дифференцированной системе маршрутизации, основанной на комплексной оценке медико-социального профиля пациента. Такой подход соответствует принципам персонализированной медицины и позволяет

оптимизировать распределение ресурсов здравоохранения, направляя наиболее уязвимых пациентов на приоритетное обслуживание.

Для наглядного представления предлагаемой организационно-функциональной модели, интегрирующей дифференцированную маршрутизацию, мультидисциплинарный подход и этапность оказания помощи, нами разработана схема стратегических направлений трансформации организации медицинской помощи пациентам с синдромом диабетической стопы и полирезистентной раневой инфекцией (рис. 9.2).

Рис. 9.2. Модель стратегических направлений трансформации организации медицинской помощи пациентам с синдромом диабетической стопы и полирезистентной раневой инфекцией.




РАСШИРЕННАЯ ДИАГНОСТИКА
• ПЦР, MALDI-TOF MS
• Посев + антибиотикограмма
• УЗИ сосудов
• Оценка HbA1c
• КТ-ангиография
КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ
АНТИМИКРОБНАЯ ТЕРАПИЯ
• Бактериофаготерапия
• НТАП
• Антибиотики по чувствительности
ГЕМОДИНАМИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ
• ЭВЛК (при ХВН)
• Сулодексид
• Ривароксабан
МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА
• Цитофлавин 10 мл в/в 10-14 дней
• Курс 2 раза в год
ХИРУРГИЧЕСКИЙ ЭТАП
• Радикальная ХО
• Некрэктомия
• Сохранение функциональных структур
• Ранние пластические операции
ПОСЛЕГОСПИТАЛЬНОЕ ВЕДЕНИЕ
ТЕЛЕМОНИТОРИНГ
• Мобильные приложения
• Фото-/видеоконтроль
• Удаленные консультации
РЕГУЛЯРНЫЙ КОНТРОЛЬ
• УЗДГ каждые 3-6 мес
• ПЦР каждые 3 мес
• HbA1c каждые 3 мес
ПРОФИЛАКТИКА РЕЦИДИВОВ
• Эластич. компрессия (II-III класс)
• Ортопедич. разгрузка
Метаболическая

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

- Рецидивы: 27,6%→12,8%
- Ампутации: ↓ на 35%
- Госпитализация: ↓ на 20-30%
- Заживление W-III: очищение ↓ на 82%
- Эрадикация: ↑ на 55%

Стартовой точкой модели выступает оценка не только клинического статуса, но и социального профиля пациента. Именно сочетание этих параметров определяет дальнейшую траекторию ведения. Предлагаемая трехуровневая система маршрутизации имеет следующую структуру.

Первый уровень предназначен для пациентов с минимальным риском неблагоприятного течения. Речь идёт о людях с компенсированным сахарным диабетом, которые социально благополучны, регулярно наблюдаются у специалистов и не отягощены выраженными факторами риска. Для них сохраняется привычный маршрут: наблюдение у участкового терапевта или эндокринолога с плановым направлением в центр диабетической стопы при появлении язвенного дефекта. Такой подход согласуется с позицией Международной федерации диабета, подчёркивающей ценность раннего выявления нарушений и контроля гликемии именно на уровне первичного звена [143].

Ко второму уровню относятся пациенты, у которых уже присутствуют признаки неблагополучия - будь то два и более социальных фактора риска или стойкая декомпенсация диабета. Для них логика ведения меняется: вместо планового ожидания им показана ускоренная диагностика, причём срок постановки окончательного диагноза не должен превышать трёх недель. Принципиальное значение приобретает мультидисциплинарный подход — совместный осмотр хирурга, эндокринолога и инфекциониста уже на этапе первого обращения. Как показывают исследования, такая тактика позволяет снизить частоту ампутаций на 30–40 % именно за счёт более раннего начала адекватной терапии [204].

Третий, наиболее сложный уровень - пациенты с максимальным риском. Это люди, у которых социальная дезадаптация (одиночество, отсутствие работы и близкого окружения) сочетается с рецидивирующими язвами СДС и полирезистентной инфекцией. У таких пациентов станданртные протоколы перестают работать и на первый план выходит индивидуальный маршрут ведения с назначением «диабет-навигатора». В его задачи входит организация срочных консультаций, контроль приверженности лечению, обучение самоконтролю и взаимодействие с социальными службами для обеспечения пациента ортопедическими изделиями и средствами ухода. Внедрение такой должности - одно из ключевых решений, рекомендованных международным руководством IWGDF 2023, и оно уже доказало свою эффективность в странах Евросоюза и США при работе с наиболее уязвимыми группами населения [81, 205].

Независимо от выбранного уровня, модель предусматривает обязательное подключение мультидисциплинарной команды. Эндокринолог, хирург, сосудистый хирург, инфекционист, микробиолог и ортопед работают в единой связке. Их задача - не просто осмотреть пациента, а обеспечить полноценную диагностику: от ПЦР-исследований и MALDI-TOF масс-спектрометрии до ультразвуковой допплерографии и, при необходимости, КТ-ангиографии.

Важно подчеркнуть, что в разработанной модели мультидисциплинарная команда помимо эндокринолога, хирурга и инфекциониста обязательно включает специалистов сосудистого профиля и невролога. В задачи сосудистого и эндоваскулярного хирургов входит комплексная оценка состояния артериального кровотока нижних конечностей уже на этапе первичного обследования, выбор оптимальной тактики хирургической коррекции артериальных и венозных нарушений, а также динамическое наблюдение в послеоперационном периоде в стационаре и при амбулаторном наблюдении.

Не менее значимой является роль невролога, который проводит дифференциальную диагностику диабетической полинейропатии, назначает патогенетическую терапию. Подобный организационный подход гарантирует непрерывность лечебно-диагностического процесса и позволяет оперативно адаптировать тактику ведения пациента в зависимости от динамики сосудистых и неврологических изменений.

Стационарный лечебный блок в рамках модели утрачивает линейность. Вместо последовательных назначений мы предлагаем параллельное воздействие на три ключевые мишени: инфекционный агент (с приоритетом фаготерапии и физических методов воздействия), венозная гемодинамика и тканевой метаболизм. Такой подход формирует условия, при которых последующее хирургическое вмешательство выполняется на подготовленных тканях, а ранние пластические операции становятся не исключением, а закономерным этапом.

Только на таком фоне выполняется хирургический этап: радикальная обработка, некрэктомия с максимальным сохранением функциональных структур. Ранние пластические операции становятся закономерным завершающим элементов активной фазы хирургического лечения.

И, наконец, послегоспитальный период в модели перестаёт быть «амбулаторным довеском». Он структурирован как полноценный этап с дистанционным контролем, регулярной объективной диагностикой и обязательными мерами вторичной профилактики. Меры вторичной профилактики включают компрессионную терапию, ортопедическую разгрузку и повторные курсы метаболической поддержки.

Такой подход, как показывают наши данные, способен кардинально изменить исходы: снизить частоту рецидивов более чем вдвое, уменьшить потребность в высоких ампутациях на треть и существенно ускорить заживление даже у самых тяжёлых пациентов.

Внедрение такой дифференцированной системы позволит не только сократить сроки постановки диагноза и повысить качество лечения, но и

добиться значительной экономии ресурсов здравоохранения. По данным исследований, внедрение мультидисциплинарных моделей и телемедицинских технологий может снизить частоту рецидивов на 35–50% и сократить длительность госпитализации на 20–30% [77].

Таким образом, переход к дифференцированной системе маршрутизации, основанной на медико-социальном профиле пациента, является необходимым шагом для повышения эффективности и качества медицинской помощи пациентам с СДС и полирезистентной инфекцией. Реализация этого подхода требует изменения нормативно-правовой базы, в том числе и внесение изменений в Клинические рекомендации, переподготовки медицинского персонала и создания единого информационного пространства на основе электронного паспорта пациента, что полностью соответствует стратегическим задачам развития системы здравоохранения в Российской Федерации.

9.3. Ожидаемый эффект от внедрения корректив

Внедрение предложенных мер может существенно повысить качество и эффективность медицинской помощи пациентам с тяжелой формой СДС и полирезистентной инфекцией за счет:

- снижения частоты осложнений: ранняя диагностика и комплексный подход помогут предотвратить развитие тяжелых инфекционных осложнений.
- повышения качества жизни пациентов: раннее начало лечения и применение персонализированных методов терапии способствуют сохранению функциональной конечности и улучшению общего состояния здоровья.
- экономической эффективности: сокращение длительности госпитализации и уменьшение частоты рецидивов (подробнее в главе 8) обеспечивают экономию ресурсов здравоохранения. Это имеет прямое медико-экономическое значение для системы ОМС.

Маршрутизация пациентов с тяжелой формой СДС требует системного

подхода, основанного на ускоренной диагностике, мультидисциплинарном взаимодействии специалистов и использовании персонализированных методов лечения.

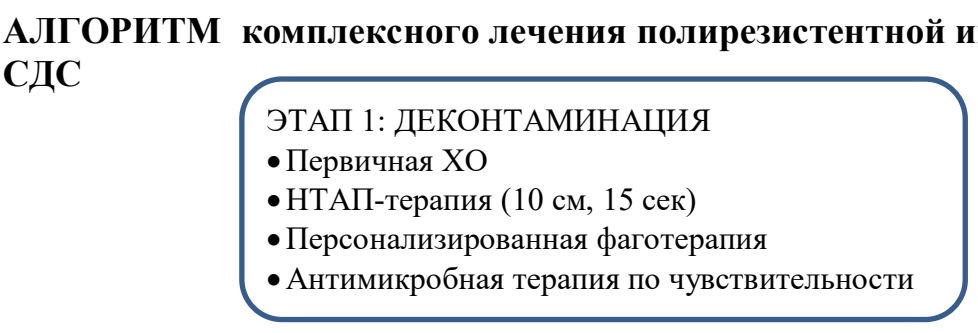
9.4. Анализ текущих протоколов лечения в стационаре

В ходе исследования были проанализированы действующие стандарты и протоколы лечения СДС в российских специализированных центрах. Выявлено, что большинство протоколов основаны на рекомендациях доказательной медицины, однако их применение в реальной практике сталкивается с рядом ограничений:

- Отсутствие обязательного микробиологического контроля при поступлении приводит к назначению эмпирической антибиотикотерапии, которая часто не соответствует чувствительности выделенных возбудителей.
- Недостаточное внимание к состоянию периферического кровотока, особенно венозного оттока, ограничивает возможности комплексной коррекции микроциркуляции.
- Редкое применние бактериофаготерапии или низкотемпературной плазмы, несмотря на высокую частоту полирезистентных инфекций.

Преодоление перечисленных ограничений потребовало разработки принципиально иной организационно-клинической модели, в основе которой — не изолированные вмешательства, а строго выверенная последовательность взаимосвязанных этапов. Предлагаемый алгоритм комплексного лечения полирезистентной инфекции при СДС представлен на рисунке 9.3.

Рисунок 9.3. Алгоритм комплексного лечения полирезистентной инфекции при синдроме диабетической стопы





Как показано на рисунке 9.3, предложенный в диссертации алгоритм выстроен как пять последовательных, но тесно связанных между собой этапов, каждый из которых решает конкретную задачу и создаёт условия для успешной реализации следующего.

Первый этап – деконтаминация. В отличие от традиционной практики, где антибиотикотерапия нередко назначается вслепую, мы настаиваем на

обязательном предварительном определении чувствительности возбудителя. Базовыми методами становятся первичная хирургическая обработка, НТАП и персонализированная фаготерапия. Системные антимикробные препараты применяются только по результатам антибиотикограммы, что позволяет минимизировать селекцию резистентных штаммов.

Второй этап – коррекция гемодинамики. При выявлении хронической венозной недостаточности 2–3 степени показана ЭВЛК. Медикаментозная поддержка включает сулодексид и ривароксабан. Обязательное применение методов эластической компрессии (компрессионный трикотаж II–III класса или бинтование).

Третий этап – метаболическая поддержка. Учитывая ключевую роль тканевой гипоксии и энергодефицита в патогенезе СДС, в алгоритм включён курс цитофлавина: сначала внутривенное введение в течение двух недель, затем переход на пероральную форму на протяжении месяца. На этом же этапе осуществляется тщательный контроль гликемии, целевые значения — 6–8 ммоль/л.

Четвёртый этап – хирургический. Важно, что этапное хирургическое вмешательство в предложенной модели выполняется на подготовленных тканях, после деконтаминации и улучшения гемодинамики. Это позволяет выполнять радикальную хирургическую обработку с максимальным сохранением функциональных структур и планировать ранние пластические операции.

Пятый этап – реабилитация. Послегоспитальное ведение не сводится к эпизодическим визитам в поликлинику. Алгоритм включает постепенное увеличение нагрузки начиная с третьей недели, ортопедическую коррекцию и регулярные курсы метаболической поддержки дважды в год.

Клиническая апробация предложенного алгоритма подтвердила его эффективность: сроки очищения ран сократились на 82 %, частота рецидивов снизилась более чем вдвое. Эти результаты позволяют рекомендовать данный алгоритм к внедрению в практику специализированных центров

диабетической стопы.

Особое внимание в исследовании было уделено внедрению инновационных методов, направленных на повышение эффективности терапии у пациентов с полирезистентной микрофлорой.

Инновационные методы лечения в стационаре

Одним из перспективных направлений является бактериофаготерапия – метод, основанный на использовании бактериофагов для специфического уничтожения патогенных микроорганизмов. При лечении пациентов с СДС персонализированный подбор фагов позволил достичь снижения микробной нагрузки на 55% ($p < 0,05$), что особенно актуально при инфекциях, вызванных полирезистентными штаммами, такими как MRSA и Pseudomonas aeruginosa. Однако необходимо учитывать ограничения данного подхода, такие как тщательный подбор бактериофагов и лизогенный эффект, которые требуют регулярного микробиологического мониторинга и коррекции терапии.

Ещё одним эффективным методом является использование НТАП для обработки раневых поверхностей. Применение аргоновой плазмы (обработка в течение 10 секунд с расстояния 10 см, 2–3 раза в неделю) позволило достигнуть надежной деконтаминации патогенной микрофлоры (эффективность 99,99–99,9999%). Вместе с этим метод способствовал восстановлеию процессов репаративной регенерации тканей, что позволило сократить сроки очищения ран на 82%. Такой результат свидетельствует о высоком потенциале использования НТАП в комплексном лечении полирезестентнй инфекции.

Особое место в комплексной тактике занимает коррекция нарушений периферического кровообращения. Эндовенозная лазерная коагуляция (ЭВЛК), выполненные по строгим показаниям, продемонстрировали достоверную эффективность: улучшение венозного оттока на 47,9% ($p<0,01$), снижение венозного давления на 38,2%, нормализация микроциркуляции.

Однако хирургическая коррекция венозного кровотока сама по себе не решает все проблемы клеточного энергодефицита, который является фундаментальным звеном патогенеза СДС. Именно здесь проявляется важность метаболической модуляции. Применение препарата цитофлавин, обладающего антигипоксическим и антиоксидантным действием, позволяет целенаправленно воздействовать на ключевые механизмы повреждения тканей: дефицит АТФ и оксидативный стресс.

Комбинация этих подходов формирует синергетический эффект, когда улучшение макро- и микроциркуляции за счёт ЭВЛК потенцируется восстановлением клеточного метаболизма.

Таким образом, комбинированный подход, интегрирующий коррекцию венозной недостаточности и метаболическую поддержку, представляет собой не локальный клинический протокол, а организационно-экономически обоснованную системную модель. Эффективность данной модели подтверждается тремя ключевыми результатами: сокращением длительности госпитализации, снижением частоты повторных госпитализаций и, как следствие, уменьшением функциональной нагрузки на стационарный сектор.

9.5. Послегоспитальное ведение и профилактика рецидивов

Ключевая проблема существующей амбулаторной практики заключается в её эпизодичности: пациент выписывается из стационара с зажившей раной и фактически выпадает из поля зрения до тех пор, пока не возникнет новый язвенный дефект. Такая реактивная тактика заведомо проигрышна, поскольку каждый последующий рецидив протекает тяжелее предыдущего и требует всё более затратных вмешательств.

Преодоление этой ситуации потребовало разработки системной модели послегоспитального мониторинга, основанной на принципах проактивного наблюдения и регулярного контроля ключевых параметров. Предлагаемая модель представлена на рисунке 9.4.

Рисунок 9.4. Организация послегоспитального мониторинга пациентов с синдромом диабетической стопы и полирезистентной инфекцией



Послегоспитальный этап ведения пациентов с нейропатической формой СДС и полирезистентной раневой инфекцией представляет собой ключевое звено, определяющее отдаленные исходы. Переход от стационара к амбулаторному наблюдению требует не пассивного контроля, а активного управления рисками рецидива.

Как показано на рисунке 9.4, предложенная модель выстроена как система, где каждый элемент работает на достижение главной цели - предотвращение рецидива.

Центральное место в модели занимает регулярный контроль трёх ключевых параметров. Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) должен оцениваться не реже одного раза в три месяца. Состояние периферического кровотока оцениваться с использованием УЗДГ каждые

шесть месяцев. Следует особое внимание уделять оценке венозного кровтока. Микробиологический контроль с использованием ПЦР-диагностики каждые три месяца позволяет отслеживать реколонизацию раны полирезистентными штаммами на самых ранних стадиях.

Второй структурный элемент модели - дистанционный мониторинг состояния раны. Социально уязвимые пациенты, проживающие в одиночестве или имеющие ограниченную мобильность, не всегда могут своевременно посетить врача даже при появлении тревожных симптомов. Внедрение телемедицинских технологий - мобильных приложений с фотофиксацией раневой поверхности и удалённых консультаций позволяет выявлять проблемы на той стадии, когда они ещё решаются амбулаторно. Это особенно важно для лиц, проживающих в отдаленных регионах или испытывающих трудности с передвижением.

Третий элемент – комплекс мер вторичной профилактики. Пожизненное использование компрессионного трикотажа второго-третьего класса при ХВН, обязательная ортопедическая разгрузка стопы с помощью индивидуальных стелек и специальной обуви, а также курсы метаболической поддержки дважды в год.

Особое внимание уделяется социально уязвимым пациентам. Для них роль координатора берет на себя «диабет-навигатор», который обеспечивает преемственность помощи, контролирует приверженность лечению, обучает самоконтролю и помогает решать бытовые вопросы.

Такой системный подход превращает послегоспитальный период из фрагментированного наблюдения в непрерывный, управляемый процесс, направленный на сохранение достигнутых результатов и предотвращение рецидивов.

Для пациентов третьего уровня риска, у которых социальная дезадаптация сочетается с полирезистентной инфекцией, наличие координирующего специалиста становится критическим фактором успеха. Навигатор не просто напоминает о визитах - он контролирует

приверженность лечению с элементами самоконтроля и взаимодействует с социальными службами для решения бытовых проблем, напрямую влияющих на состояние стоп.

Апробация предложенной модели, в течение первого года частота рецидивов в первой группе составила 27,7% (53 пациента), во второй - 47,2% (84 пациента) ($p = 0,001$). Особенно показательным является доля пациентов, полностью избежавших рецидива в течение года: 57,6% (110 человек) в группе комбинированного лечения против 22,5% (40 человек) в группе сравнения ($p < 0,001$).

Внедрение данной модели в практику центров диабетической стопы требует решения нескольких организационных задач: подготовки кадров для работы с телемедицинскими технологиями, обеспечения преемственности между стационаром и амбулаторным звеном, а также нормативного закрепления обязанностей диабет-навигатора.

Внедрение данной стратегии соответствует принципам доказательной медицины и должно рассматриваться как часть долгосрочной программы развития системы общественного здоровья, ориентированной на персонализацию и профилактику.

Только такой системный, персонифицированный и технологически оснащенный подход позволяет не только повысить эффективность лечения, но и снизить бремя для системы ОМС за счет сокращения числа повторных госпитализаций и ампутаций.

Разработанный алгоритм соответствует принципам персонализированной медицины и может быть рекомендован к внедрению в клинические протоколы. Только системный подход к организации медицинской помощи позволит справиться с проблемой полирезистентных инфекций и повысить качество жизни пациентов с синдромом диабетической стопы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная медицина сталкивается с серьезной проблемой роста распространенности сахарного диабета, который по данным Международного диабетического фонда поразил уже 537 миллионов взрослых людей во всем мире. Особую тревогу вызывает высокая частота гнойных осложнений СДС, которые становятся ведущей причиной госпитализаций и ампутаций нижних конечностей [157].

Микробиологическая картина инфекционных осложнений СДС отличается значительной вариабельностью - от моноинфекций грамположительными кокками при острых процессах до сложных полимикробных ассоциаций с преобладанием аэробно-анаэробных сочетаний (87,7% случаев) при хронических формах. Особую проблему представляет рост антибиотикорезистентности, обусловленный неконтролируемым применением антибактериальных препаратов, частыми госпитализациями и сопутствующими иммунодефицитными состояниями.

Отсутствие единых подходов к диагностике и лечению таких осложнений, а также недостаточная эффективность существующих подходов диктуют необходимость разработки новых комплексных алгоритмов ведения пациентов с инфицированными формами СДС.

Проведение данного исследования позволило не только уточнить эпидемиологические и микробиологические особенности полирезистентных инфекций при СДС, но и разработать научно обоснованный подход к их лечению.

Диссертационное исследование основано на анализе результатов обследования и лечения 507 пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС), осложнённым трофическими язвами II–III степени по классификации WIfI. В основном сравнительном исследовании сформированы две группы: группа 1 — 257 пациентов с полирезистентной раневой инфекцией (ПРМ+), группа 2 — 250 пациентов без выявленной полирезистентной микрофлоры (ПРМ−).

Установлено, что микробиологический пейзаж ран у пациентов с ПРМ+ характеризуется статистически значимым преобладанием грамотрицательных патогенов (52,5% против 12,0% в группе ПРМ−; $p < 0,001$), тогда как в группе ПРМ− доминировали грамположительные микроорганизмы (88,0% против 47,5%; $p < 0,001$).

В структуре ПРМ+ верифицированы: Staphylococcus aureus (25,7%), Klebsiella pneumoniae (24,1%), Pseudomonas aeruginosa (14,4%), Acinetobacter baumannii (11,0%), Escherichia coli (8,6%) и Enterococcus faecalis (4,7%).

Молекулярно-генетический анализ выявил высокую частоту маркеров резистентности: ген mecA у всех исследованных штаммов Staphylococcus spp.; у Klebsiella pneumoniae — гены карбапенемаз NDM (50%), KPC (40%), а также гены β-лактамаз SHV (100%), CTX-M-1 (70%), TEM (65%); у 75% изолятов Acinetobacter baumannii выявлены карбапенемазы OXA-23-like и OXA-40-like.

Многофакторный анализ позволил выделить независимые факторы риска развития полирезистентной инфекции: рецидивирование язв (ОШ = 6,28; 95% p < 0,001), отсутствие специализированного наблюдения (ОШ = 3,84; p < 0,001), предшествующая антибиотикотерапия (ОШ = 2,8; p = 0,006), длительность язвенного анамнеза более 5 лет (ОШ = 2,47; p = 0,001), глубина поражения до кости (ОШ = 2,36; p = 0,001) и оперативные вмешательства на стопе в анамнезе (ОШ = 2,2; 95% ДИ: 1,52–3,14; p = 0,001)..

В рамках проведенного диссертационного исследования была оценена клиническая и микробиологическая эффективность таргетной бактериофаготерапии у пациентов с полирезистентной раневой инфекцией СДС. В исследование были включены 257 пациентов, разделенных на две подгруппы: основную – с применением персонализированной фаготерапии (n=104) и контрольную – без ее применения (n=85).

У пациентов, получавших бактериофаготерапию, наблюдалось снижение уровня микробной обсемененности раны к 10-м суткам лечения на 5 и более порядков, таких патогенов, как Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Enterococcus faecalis и Acinetobacter baumannii. Это обеспечило надежное купирование инфекционного процесса и снижению риска селекции новых полирезистентных штаммов.

Однако эффективность фаготерапии в отношении ключевых грамотрицательных патогенов, таких как Klebsiella pneumoniae и

Pseudomonas aeruginosa, оказалась ниже. Несмотря на снижение микробной нагрузки этот уровень оставался выше критического значения (10^5 КОЕ/мл), что не позволило достичь полной эрадикации данных возбудителей из очага инфекции. Это указывает на ограниченную литическую активность используемых бактериофагов в отношении некоторых видов микроорганизмов и требует дальнейшей оптимизации методов подбора препаратов.

Клинические показатели также свидетельствовали об эффективности фаготерапии. У пациентов основной группы отмечено более быстрое снижение воспалительных маркеров: уровень С-реактивного белка (СРБ) и лейкоцитов который нормализовался к 10-м суткам терапии. Эти изменения демонстрируют положительное влияние бактериофаготерапии на общее состояние больных и позволяют рекомендовать ее как важный компонент комплексного лечения.

Тем не менее, было выявлено ограничение в использовании персонализированной фаготерапии. В 27% случаев не удалось подобрать чувствительные к полирезистентным штаммам бактериофаги, а в 8–10% наблюдался лизогенный эффект, снижающий литическую активность препарата. Кроме того, технология подбора фагов требует 6–8 дней, что делает невозможным ее применение в острой фазе инфекционного процесса.

Персонализированная бактериофаготерапия в составе комплексного лечения пациентов с СДС и полирезистентной раневой инфекцией демонстрирует клиническую и микробиологическую эффективность.

Наибольший антимикробный эффект фаги оказывают в отношении Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Enterococcus faecalis и Acinetobacter baumannii. Менее выраженная эффективность отмечена в отношении Klebsiella pneumoniae и Pseudomonas aeruginosa, что требует разработки специфических фаговых препаратов или комбинированных подходов.

Применение фаготерапии ассоциировано с более быстрой динамикой воспалительных маркеров (СРБ, лейкоциты, температура), что свидетельствует о системном противовоспалительном эффекте.

Вместе с тем выявлены ограничения метода: в 27% случаев подобрать активный фаг не удалось, а частота лизогенного эффекта составила 8–10%, что диктует необходимость обязательного микробиологического контроля и ограничивает применение метода вне острой фазы инфекционного процесса

На основании полученных данных можно рекомендовать применение персонализированной бактериофаготерапии у пациентов с СДС в рамках комплексного лечения полимикробных инфекций с обязательным предварительным тестированием чувствительности выделенных микроорганизмов к фагам. Для повышения эффективности необходимы дальнейшие разработки в области создания новых высокоактивных фаговых препаратов, направленных на преодоление лизогенной инертности и расширения спектра литической активности.

В ходе проведенного исследования была детально изучена эффективность низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП) в отношении различных патогенных микроорганизмов и ее влияние на жизнеспособность фибробластов.

Экспериментально доказано, что НТАП обладает выраженной антимикробной активностью, как в отношении музейных штаммов, так и клинических изолятов. При различных режимах воздействия было достигнуто снижение титра жизнеспособных микроорганизмов с 10^8-10^9 до единичных КОЕ, что соответствует эффективности от 99,99% до 100%. Особенно важно отметить высокую активность в отношении полирезистентных штаммов ESKAPE-патогенов, включая Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Escherichia coli, а также грамположительных бактерий MRSA, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium. При этом дрожжеподобные грибы Candida albicans

продемонстрировали более высокую устойчивость к воздействию НТАП по сравнению с бактериями.

Исследование влияния НТАП на культуру фибробластов человека показало дозозависимый эффект воздействия. При обработке на расстоянии 10 см в течение 15 секунд наблюдалось значительное снижение количества клеток (в 5 раз), тогда как при увеличении расстояния до 25 см и сокращении времени воздействия до 15 секунд отмечалась даже стимуляция пролиферации ($ИП_3$ – 1,75). Выявлено нарушение структурной целостности клеточных мембран, особенно при воздействии на расстоянии 10-15 см (снижение ЦКМ до 23-24 баллов).

Важно отметить, что после пересева клеток наблюдалось восстановление пролиферативной активности, что свидетельствует об обратимости некоторых изменений в популяции фибробластов. При наличии коллагеновой повязки клетки демонстрировали более высокую устойчивость к воздействию НТАП, что указывает на частичную защитную роль тканевых структур.

На основании полученных результатов определены оптимальные параметры воздействия НТАП (25 см - 15 сек), обеспечивающие минимальный цитотоксический эффект при сохранении высокой антимикробной активности. Это имеет важное значение для разработки безопасных и эффективных протоколов применения НТАП в клинической практике, особенно при лечении ран с множественной лекарственной устойчивостью патогенной микрофлоры.

В ходе проведенного сравнительного проспективного исследования была изучена эффективность НТАП в комплексном лечении пациентов с СДС и полирезистентной инфецией. Сформированы две группы по 30 пациентов: основную (группа 1) с применением НТАП и контрольную (группа 2), получавшую стандартную терапию.

В клиническом исследовании применение НТАП (режим В2, 10 см, 15 сек) обеспечило снижение микрообеспечило снижение микробной

обсеменённости с 6,4 до 1,6 lg КОЕ/мл ($p < 0,001$) против отсутствия значимой динамики в контроле (с 5,7 до 5,2 lg КОЕ/мл; $p > 0,05$). Зафиксировано снижение уровня СРБ с 78,5 до 9,4 мг/л ($p < 0,01$) и лейкоцитов с $17,6 \times 10^9$/л до $6,4 \times 10^9$/л.

Метод эффективно подавлял микробные ассоциации, включающие полирезистентные Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis, Enterococcus faecalis и другие патогены.

Гистологические исследования подтвердили положительное влияние НТАП на процессы регенерации. В группе с применением НТАП наблюдалось более быстрое очищение от тканевого детрита, увеличение доли грануляционной ткани, активация ангиогенеза и уменьшение признаков воспаления.

Научная новизна исследования заключается в доказательстве высокой антимикробной эффективности действия НТАП по отношению к полирезистным бактерим. Практическая значимость работы подтверждается разработкой методики применения НТАП в комплексном лечении, определением критериев эффективности и установлением оптимальных режимов обработки.

Полученные результаты позволяют рекомендовать НТАП как эффективный компонент комплексной терапии пациентов с СДС. Оптимальный режим применения: 15 секунд на единицу площади с расстояния 10 см. Метод особенно показан при полирезистентных инфекциях и обеспечивает комплексное воздействие на различные звенья раневого процесса.

Полученные данные открывают новые перспективы в лечении трудноизлечимых ран и могут быть использованы для совершенствования методов лечения пациентов с синдромом диабетической стопы.

Синдром диабетической стопы представляет собой тяжелое осложнение сахарного диабета, течение которого значительно ухудшается при сопутствующей хронической венозной недостаточности. Сочетание этих

патологий создает благоприятные условия для развития полирезистентных инфекций, что существенно осложняет клиническую картину и ухудшает прогноз лечения.

Проведено исследование эффективности различных подходов к лечению пациентов с СДС, осложненных ХВН. В ходе работы были сформированы две группы пациентов: основная (группа 1, n=191), получавшая комбинированное лечение (эндовенозная лазерная коагуляция + цитофлавин), и контрольная (группа 2, n=178), получавшая только консервативную терапию.

В основной группе зафиксировано существенное улучшение всех изучаемых показателей венозного кровотока. Клинические симптомы ХВН снизились: отеки нижних конечностей уменьшились до 17,3%, судороги икроножных мышц снизились до 50,3%, гипостатическая экзема уменьшилась до 22% ($p<0,001$).

Коррекция венозного оттока сопровождалась увеличением объёмной скорости кровотока в бедренной вене с 0,85±0,7 до 1,67±1,2 л/мин ($p<0,01$) и в подколенной вене с 0,26±0,4 до 1,2±0,2 л/мин ($p<0,001$. Нормализация гемодинамики потенцировалась метаболической терапией цитофлавином, что выразилось в снижении концентрации малонового диальдегида (МДА) в 2,07 раза (с 14,46±2,84 до 6,98±1,35 мкмоль/л; $p < 0,05$) и повышении активности каталазы в 1,9 раза (с 1,46±0,64 до 2,77±0,71 мкат/л; $p < 0,01$).

Микробиологический анализ показал существенное снижение бактериальной обсемененности в основной группе (на 72,7%) по сравнению с контрольной группой (36,5%). Особенно заметное снижение наблюдалось для Staphylococcus aureus (с 28,2% до 5,1%), Klebsiella pneumoniae (с 23,9% до 4,7%) и Escherichia coli (с 9,4% до 2,9%) ($p<0,01$).

Динамика маркеров системного воспаления также была более выраженной в основной группе. Уровень лейкоцитов снизился с 19,7±1,5 до 9,7±0,61×10^9/л, СРБ уменьшился с 23,2±1,8 до 8,2±1,8 г/л, температура тела нормализовалась до 36,8±0,5°C. Сроки заживления ран в основной группе

были значительно короче: очищение язвенного дефекта происходило за 6,7±0,5 суток, формирование грануляционной ткани занимало 7,0±0,6 (W-II) и 9,6±0,6 (W-III) суток.

В контрольной группе динамика показателей была существенно менее выраженной. Уровень лейкоцитов снизился только до 12,3±0,7×10⁹/л, температура тела оставалась субфебрильной (37,5±0,5°C), сроки очищения язвенного дефекта составляли 7,91±0,5 (W-II) и 12,2±0,5 (W-III) суток.

Полученные результаты убедительно свидетельствуют, что синергия хирургической коррекции венозного оттока и метаболической терапии обеспечивает оптимальные условия для заживления трофических язв СДС.

В ходе реализации работы разработан алгоритм, который представляет собой инновационный подход к лечению ран и язв при СДС, осложненных полирезистентной инфекцией. Его уникальность заключается в интеграции четырех ключевых направлений терапии: таргетной антимикробной, хирургической, гемодинамической и метаболической коррекции. Персонифицированная диагностика начинается с комплексного обследования пациента, включающего оценку степени компенсации СД, исследование микробного пейзажа, включая ПЦР-диагностику, оценку ангиоархитектоники конечности методом УЗДС, а также определение метаболического статуса.

Базовая терапия включает интенсивную инсулинотерапию с целевым уровнем гликемии 6 - 8 ммоль/л, иммобилизацию конечности с использованием индивидуальных разгрузочных систем и метаболическую коррекцию Цитофлавином (внутривенно 10 мл дважды в сутки 14 дней, затем перорально 2 таблетки трижды в день 30 дней).

Антимикробная терапия строится на основе таргетной бактериофаготерапии, НТАП-терапии (ежедневные сеансы в режиме В2 на расстоянии 10 см, 15 секунд, курс 10-14 процедур) и комбинированной антибиотикотерапии по данным чувствительности.

Гемодинамическая коррекция включает ЭВЛК при ХВН 2-3 стадии, микроциркуляторную поддержку Сулодексидом (600 ЛЕ/сутки) и антикоагулянтную терапию Ривароксабаном (10 мг/сутки).

Применение разработанного алгоритма сопровождалось статистически значимым изменением структуры хирургических вмешательств в пользу органосохраняющей тактики (p=0,0025).

Интеграция НТАП и фаготерапии позволила сместить сроки восстановительных операций: доля ранних вмешательств (в первые 10 суток) увеличилась с 33,2% до 44,6% (p = 0,025), а частота поздних (> 20 суток) снизилась в 3 раза (с 19,6% до 6,5%; p < 0,001).

Распределение сроков выполнения восстановительных операций также статистически значимо различалось между группами (p<0,001). В первые 10 суток восстановительное вмешательство выполнено у 83 (44,6%) пациентов основной группы против 59 (33,2%) группы сравнения (p=0,025).

В структуре пластических операций возросла доля выполнения пластики местными тканями (25,3% против 15,7%; p = 0,025) при снижении потребности в аутодермопластике (13,9% против 24,7%; p = 0,009).

Таким образом, анализ структуры восстановительных вмешательств свидетельствует, что основное межгрупповое различие определялось не общей частотой выполнения реконструктивных операций, а соотношением отдельных методов закрытия раневого дефекта.

Средняя продолжительность стационарного лечения сократилась на 4,67 суток, или на 21,0% (p<0,001).

Полученные результаты убедительно доказывают эффективность комплексного подхода, основанного на принципах максимального сохранения тканей, использования функционально обоснованных методов реконструкции и отказа от малоэффективных методик. Такой подход позволяет достичь не только анатомического, но и функционального восстановления, что принципиально важно для качества жизни пациентов с диабетической стопой.

Инновационность подхода заключается в воспроизводимости и адаптивности под индивидуальные характеристики пациента, строго последовательном, научно обоснованном применении всех компонентов лечени], индивидуальном подборе методов для каждого пациента и создании условий для максимального сохранения функциональных возможностей стопы.

Проведенное исследование демонстрирует высокую эффективность разработанного алгоритма лечения пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС) и полирезистентной инфекцией в ближайшем и в отдаленном периодах наблюдения. В ходе работы были изучены результаты двух групп пациентов: основной (191 человек), получавшей комбинированное лечение с эндовенозной лазерной коагуляцией (ЭВЛК) и цитофлавином и контрольной (178 человек), получавшей стандартное лечение без венозной коррекции и Цитофлавина.

Анализ клинических показателей выявил значительные различия между группами. В основной группе уже к 10-м суткам частота выявления варикозно-трансформированных вен после вмешательства снизилась на 71% от исходного уровня — со 100% до 29% ($p<0,001$). В контрольной группе подобных изменений не отмечалось. Отеки нижних конечностей в первой группе уменьшились на 73% к 10-м суткам ($p<0,001$), тогда как во второй группе изменений не зафиксировано.

Показатели венозного оттока также продемонстрировали существенную разницу. В основной группе отмечалась полная нормализация параметров кровотока в бассейне БПВ, в то время как в контрольной группе наблюдалось прогрессирование венозной недостаточности с увеличением диаметра БПВ на 11%. В бедренной вене первой группы зафиксировано увеличение диаметра на 71%, во второй группе показатели оставались без изменений ($p < 0,001$). Объёмная скорость кровотока (Vvol) демонстрировала устойчивый рост с максимальным приростом на 3-м месяце — 124% (с 0,85±0,7 до 1,90±1,1 л/мин; $p < 0,001$), с последующим незначительным

снижением к 6-му месяцу до 114% (1,82±1,0 л/мин; $p < 0,001$) выше исходного уровня. В группе 2 Объёмная скорость кровотока (Vvol) оставалась без существенных изменений ($p > 0,05$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что коррекция патологического поверхностного венозного рефлюкса методом ЭВЛК сопровождается стойкой перестройкой венозной гемодинамики в течение 6 месяцев наблюдения. Совокупность выявленных изменений отражает формирование компенсаторной перестройки глубокого венозного кровотока после устранения патологического поверхностного рефлюкса.

В контрольной группе сохранение патологического поверхностного рефлюкса сопровождалось увеличением диаметра БПВ и снижением Vmean в БПВ и глубоких венозных сегментах, что указывает на не благоприятную динамику венозной гемодинамики.

Анализ гликемического профиля выявил схожую динамику в обеих группах – отмечалась тенденция к увеличению среднего уровня гликемии. Однако, в основной группе на этапе от 3-го до 6-го месяца рост составил 4%, тогда как в контрольной группе – 33,5%.

Метаболическая терапия цитофлавином сопровождалась снижением концентрации малонового диальдегида (МДА) в 2,07 раза (с 14,46±2,84 до 6,98±1,35 мкмоль/л; $p < 0,05$) и повышением активности каталазы в 1,9 раза (с 1,46±0,64 до 2,77±0,71 мкат/л; $p < 0,01$). Антиоксидантный эффект сохранялся до 3 месяцев с нивелированием межгрупповых различий к 6-му месяцу.

Особое внимание заслуживает динамика рецидивов трофических язв. Частота рецидивов в критический период 3–6 месяцев составила 12,6% против 27,5% ($p < 0,001$). Кумулятивная частота рецидивов к концу года снизилась с 47,2% до 27,7% ($p = 0,001$). Доля пациентов с безрецидивным течением в течение года возросла с 22,5% до 57,6% ($p < 0,001$).

Таким образом, разработанный алгоритм лечения, включающий комбинацию таргетной бактериофаготерапии, физических методов

антимикробного воздействия, коррекции гемодинамических и метаболических нарушений, а также радикальную хирургическую обработку, демонстрирует значительное преимущество перед традиционным подходом лечения. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости внедрения данного подхода в клиническую практику, особенно для лечения пациентов с тяжелыми резистентными инфекциями.

Клиническая эффективность алгоритма подтверждается как статистически значимым снижением частоты рецидивов в среднесрочной перспективе, так и улучшением лабораторно-инструментальных показателей, отражающих основные патогенетические механизмы развития трофических нарушений при синдроме диабетической стопы.

На основании выявленных клинико-микробиологических и медико-социальных факторов разработана и научно обоснована организационно-методическая модель преемственного оказания медицинской помощи пациентам с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной раневой инфекцией, предусматривающая дифференцированную трёхуровневую маршрутизацию в зависимости от степени инфекционного, сосудистого, метаболического и медико-социального риска, мультидисциплинарное взаимодействие, преемственность между первичным звеном, специализированным центром и стационаром, персональное сопровождение социально дезадаптированных пациентов и проактивный послегоспитальный мониторинг.

Необходимость дифференцированной маршрутизации обусловлена установленными медико-социальными различиями между 257 пациентами с ПРМ+ и 250 пациентами с ПРМ−. Трудовая занятость, уровень образования и наличие социального окружения статистически значимо различались между группами ($p=0,008$; $p=0,045$ и $p=0,049$ соответственно), тогда как возраст, пол и место проживания статистически значимых различий не имели ($p=0,123$; $p=0,841$ и $p=0,926$ соответственно). Выявлена недостаточная регулярность эндокринологического наблюдения ($p=0,003$): регулярный контроль

осуществляли 31,1% пациентов ПРМ+ против 44,0% пациентов ПРМ−. Доля пациентов с декомпенсацией углеводного обмена при HbA1c≥7,5% составила **79,7% против 67,6% (p=0,002)**, целевой уровень HbA1c был достигнут у **19,8% против 41,6% (p<0,001)**. Индивидуальными ортопедическими стельками были обеспечены **24,1% пациентов ПРМ+ против 31,2% пациентов ПРМ− (p=0,049)**.

Разработана и научно обоснована организационно-методическая модель **предусматривает дифференцированную трёхуровневую маршрутизацию** пациентов в зависимости от сочетания клинических, метаболических, инфекционных и медико-социальных факторов риска:

Первый уровень (стандартный риск) – наблюдение пациентов с компенсированным сахарным диабетом, социально адаптированных, без признаков полирезистентной инфекции; сохраняется существующий маршрут с плановым направлением в центр диабетической стопы.

Второй уровень (высокий риск) – ускоренная диагностика (в течение 3 недель) и мультидисциплинарное ведение пациентов, имеющих два и более социальных факторов риска и декомпенсацию СД (HbA1c ≥ 8,5%) с участием хирурга, эндокринолога и инфекциониста.

Третий уровень (очень высокий риск) – индивидуальный маршрут пациентов с сочетанием верифицированной полирезистентной инфекции и социальной дезадаптации с координацией помощи персональным «диабет-навигатором», обеспечивающим преемственность между уровнями оказания помощи, контроль приверженности лечению и взаимодействие с социальными службами.

Структурными компонентами модели являются участие мультидисциплинарной команды: эндокринолога, хирурга, сосудистого хирурга, инфекциониста, микробиолога, невролога и ортопеда, а так же преемственность и проактивный послегоспитальный мониторинг. Наблюдение после завершения стационарного этапа, включает контроль раневого процесса и микробиологического статуса (ПЦР-диагностика

каждые 3 месяца), оценку гликемического контроля (HbA1c каждые 3 месяца), венозной гемодинамики (УЗДГ каждые 6 месяцев), ортопедической разгрузки и выполнение пациентом лечебно-профилактических мероприятий.

Реализация разработанной модели обеспечила улучшение отдалённых результатов лечения. В критический период 3–6 месяцев частота рецидивов трофических язв снизилась с 27,5% до 12,6% ($p<0,001$), к концу первого года наблюдения кумулятивная частота рецидивов – с 47,2% до 27,7% ($p=0,001$), а доля пациентов с безрецидивным течением в течение года увеличилась с 22,5% до 57,6% ($p<0,001$). Полученные результаты подтверждают клиническую эффективность дифференцированной маршрутизации и необходимость включения медико-социальных детерминант в систему оценки риска неблагоприятного течения заболевания.

Эффективность лечения СДС, осложнённого полирезистентной раневой инфекцией, определяется не применением отдельной медицинской технологии, а последовательной интеграцией микробиологической диагностики и персонализированной антимикробной терапии, бактериофаготерапии, НТАП, коррекции венозной гемодинамики посредством ЭВЛК, метаболической поддержки цитофлавином, органосохраняющей хирургической тактики, ранней реконструкции и преемственного послегоспитального наблюдения. Разработанный подход обеспечивает обеспечивает сокращение сроков стационарного лечения на 21,0% (с 22,25±0,58 до 17,58±0,46 суток; $p<0,001$), снижение частоты ампутаций и увеличение доли пациентов с безрецидивным течением в течение года с 22,5% до 57,6% ($p<0,001$).

В совокупности результаты исследования позволили решить крупную научно-практическую задачу хирургии – повысить эффективность лечения и снизить риск неблагоприятных исходов у пациентов с нейропатической формой синдрома диабетической стопы, осложнённой полирезистентной раневой инфекцией, посредством научного обоснования и клинической апробации комплексной лечебно-организационной системы. Научная

значимость работы заключается в установлении клинических, микробиологических, гемодинамических, метаболических и медико-социальных факторов, определяющих течение заболевания и эффективность лечения, а практическая значимость – в разработке алгоритмов их использования при выборе лечебной тактики и маршрутизации пациентов.

Таким образом, разработанная организационно-методическая модель обеспечивает переход к персонализированной системе оказания медицинской помощи, формирующей новую парадигму, в которой лечебная тактика определяется совокупностью клинических, микробиологических, сосудистых, метаболических и медико-социальных характеристик пациента. Её применение ориентировано на профилактику рецидивирования язв и прогрессирования заболевания, что определяет целесообразность внедрения разработанного комплекса в практику специализированных центров диабетической стопы и гнойной хирургии.

ВЫВОДЫ

1. Полирезистентная рецидивирующая раневая инфекция у больных с синдромом диабетической стопы характеризуется полимикробным спектром с преобладанием грамотрицательных микроорганизмов (52,5% против 12,0% в группе сравнения; $p<0,001$), представленных преимущественно Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, а также метициллинорезистентным Staphylococcus aureus, обладающих множественной фенотипической и генетически обусловленной устойчивостью, включая гены карбапенемаз (NDM, KPC, OXA), β-лактамаз расширенного спектра (SHV, TEM, CTX-M-1) и ген mecA. Формирование полирезистентной инфекции статистически значимо ассоциировано с рецидивированием язв (ОШ=6,28; 95% ДИ: 4,02–9,81), отсутствием специализированного наблюдения (ОШ=3,84; 95% ДИ: 1,92–7,68), предшествующей антибиотикотерапией (ОШ=2,80; 95% ДИ: 1,31–5,93, что обосновывает необходимость разработки новых лечебных стратегий.

2. Персонализированная бактериофаготерапия в составе комплексного лечения полирезистентной раневой инфекции у больных с синдромом диабетической стопы обеспечивает достоверное снижение микробной обсеменённости на 55% ($p<0,05$) и достижение полной эрадикации возбудителей у 68% больных, что сопровождается ускоренным регрессом системного воспалительного ответа. Эффективность метода ограничена: отсутствием активного бактериофага к возбудителю в 27% случаев, развитием лизогенного эффекта в 8–10% случаев, а также длительностью процедуры персонализированного подбора (6–8 суток), что определяет целесообразность применения бактериофагов вне острой фазы инфекционного процесса при обязательном предварительном тестировании чувствительности выделенной микрофлоры.

3. Экспериментально установлена высокая бактерицидная активность низкотемпературной аргоновой плазмы, в том числе по отношению к ESKAPE-патогенам и Candida albicans, с эффективностью 99,99–100%. Определены дифференцированные режимы воздействия: бактерицидный режим- 15 секунд на расстоянии 10 см; для активизации пролиферации — 25 см при той же экспозиции, что повышает индекс пролиферации до 1,75. Клиническое применение НТАП подтвердило высокую бактерицидную эффективность метода, а также выраженным действием на репаративные процессы, стимуляцией развития лимфогистиоцитарной грануляционной ткани и увеличением доли фиброзной ткани с 21,0% до 39,3% ($p<0,05$).

4. Венозная дисфункция при синдроме диабетической стопы, проявляющаяся патологическим рефлюксом, венозной гипертензией и нарушением микроциркуляции, является значимым патогенетическим фактором хронизации раневого процесса. Комбинированное применение эндовенозной лазерной коагуляции и метаболической терапии цитофлавином обеспечило статистически значимое превосходство над стандартным лечением по основным параметрам: объёмная скорость кровотока в бедренной вене увеличилась на 96,5% ($p<0,01$), венозное давление снизилось на 38,2% ($p<0,05$), отёк купирован на 62,3% ($p<0,05$); микробная обсеменённость снизилась на 72,7% ($p<0,01$). Метаболическая модуляция цитофлавином сопровождалась компенсацией оксидативного стресса (снижение МДА в 2,07 раза, повышение активности каталазы в 1,9 раза; $p<0,05$), что обеспечило сокращение сроков очищения язвенного дефекта на 82% и ускорение эрадикации микрофлоры на 55% при тяжёлых поражениях (W-III; $p<0,01$).

5. Разработанный алгоритм комплексного хирургического лечения, включающий антимикробную деконтаминацию, коррекцию венозного кровотока и метаболическую поддержку статистически достоверно изменяет структуру хирургической тактики в пользу органосохраняющих

вмешательств: суммарная частота ампутаций снижается, преимущественно за счёт более широкого применения ограниченных резекций (22,6% против 12,4%; p=0,003). Потребность в повторных хирургических обработках уменьшается с 64,0% до 39,7% (p<0,001). Доля восстановительных операций, выполненных в первые 10 суток, увеличивается на 11,4 % (p=0,025), а частота поздних вмешательств (более 20 суток) сокращается в 3 раза — с 19,6% до 6,5% (p<0,001). Средняя продолжительность госпитализации сокращается на 21,0% (p<0,001).

6. Разработанный алгоритм комбинированного лечения больных с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной инфекцией обеспечивает статистически значимое улучшение отдалённых результатов лечения больных с синдромом диабетической стопы. ЭВЛК устранила патологический венозный рефлюкс с формированием компенсаторной перестройки глубоких вен, а метаболическая модуляция цитофлавином компенсировала оксидативный стресс (снижение МДА в 2,07 раза; рост активности каталазы в 1,9 раза; p<0,05). Частота рецидивов трофических язв в критический период 3–6 месяцев снизилась с 27,5% до 12,6% (p<0,001), кумулятивная частота рецидивов за год наблюдения — с 77,5% до 42,4% (p=0,001), а доля пациентов с безрецидивным течением в течение года увеличилась с 22,5% до 57,6% (p<0,001).

7. Разработаная и научно-обоснованая организационно-методическая модель преемственной помощи пациентам с синдромом диабетической стопы, осложнённым полирезистентной раневой инфекцией основывается на медико-социальных детерминантах (трудовая занятость, p=0,008; образование, p=0,045; социальная изоляция, p=0,049), фрагментацию эндокринологического наблюдения (p=0,003) и дефицит ортопедической поддержки (p=0,049).

Модель предусматривает дифференцированную трёхуровневую маршрутизацию, ускоренную диагностику (≤3 недель), мультидисциплинарное взаимодействие, персональное сопровождение

социально дезадаптированных пациентов и проактивный послегоспитальный мониторинг с использованием лабораторного, ультразвукового и медицинского контроля.

Клиническая апробация подтвердила эффективность модели: частота рецидивов и доля пациентов с безрецидивным течением изменились более чем вдвое по сравнению со стандартной тактикой. Предложенный системный подход, сочетающий клинические инновации и оптимизированную организацию, повышает эффективность лечения и демонстрирует экономическую целесообразность.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для эффективного лечения пациентов с синдромом диабетической стопы и риском полирезистентной инфекцией рекомендуется проводить расширенное микробиологическое обследование при поступлении в стационар до начала антимикробной терапии, включающее посев раневого отделяемого с расширенной антибиотикограммой, ПЦР-диагностику и определение генетических маркеров антибиотикорезистентности (карбапенемазы, β-лактамазы расширенного спектра, ген mecA). Особое внимание следует уделять пациентам с рецидивирующими язвами, отсутствием специализированного наблюдения, предшествующей антибиотикотерапией и длительностью язвенного анамнеза более 5 лет, что требует отказа от стандартной эмпирической терапии в пользу персонализированных антимикробных стратегий.

2. При подтверждённой полирезистентной инфекции рекомендуется применение персонализированной бактериофаготерапии при установленной чувствительности возбудителя, что обеспечивает снижение микробной обсеменённости и достижение полной эрадикации возбудителей у большинства больных. Бактериофаги применяются местно и перорально в виде фаговых коктейлей курсом 10–14 суток. При выборе данного метода необходимо учитывать его ограничения: возможность отсутствия активного бактериофага, риск лизогенного эффекта и длительность персонализированного подбора (6–8 суток).

3. Для антимикробной деконтаминации ран у пациентов с ранами при синдроме диабетической стопы рекомендуется использование НТАП в различных режимах в зависимости от фазы раневого процесса: бактерицидный режим (экспозиция 15 секунд на расстоянии 10 см, курс 10–14 ежедневных процедур) для эрадикации микрофлоры в фазе инфекционно-воспалительного процесса; репаративный режим (экспозиция 15 секунд на расстоянии 25 см) для активизации пролиферации фибробластов и микроциркуляции.

4. Пациентам с СДС при наличии гемодинамически значимой ХВН (2–3 стадия) целесообразно включение ЭВЛК в комплексное лечение в сочетании с метаболической терапией цитофлавином (внутривенно 10 мл дважды в сутки 14 дней, затем перорально 2 таблетки трижды в день 30 дней; повторные курсы 2 раза в год). Восстановление венозного кровтока создает условия для устранения локального отека и эрадикации полирезистентной микрофлоры.

5. Хирургическую тактику целесообразно основывать на реализаци пяти этапов: антимикробная деконтаминация (таргетная бактериофаготерапия, низкотемпературная аргоновая плазма), коррекция венозного кровотока, метаболическая поддержка, органосохраняющие хирургические вмешательства (радикальная хирургическая обработка с сохранением функциональных структур) и ранние реконструктивно-пластические операции. Реализация алгоритма обеспечивает переход к органосохраняющей стратегии со снижением частоты ампутаций и сокращением продолжительности госпитализации.

6. На послегоспитальном этапе рекомендуется организация проактивного мониторинга для профилактики рецидивов трофических язв, включающего: регулярный микробиологический контроль (ПЦР-диагностика каждые 3 месяца), оценку гликемического контроля (определение уровня HbA1c каждые 3 месяца), мониторинг венозной гемодинамики (УЗДГ сосудов нижних конечностей каждые 3–6 месяцев), обязательную ортопедическую разгрузку (индивидуальные стельки), компрессионную терапию (при отсутствии артериальной ишемии) и повторные курсы метаболической поддержки цитофлавином (2 раза в год). Клиническая эффективность данного подхода подтверждена снижением частоты рецидивов и увеличением доли пациентов с безрецидивным течением в течение года.

7. Для обеспечения преемственности и повышения эффективности медицинской помощи пациентам с синдромом диабетической стопы и

полирезистентной раневой инфекцией целесообразно внедрение дифференцированной трёхуровневой маршрутизации: первый уровень (стандартный риск) — плановое наблюдение социально адаптированных пациентов с компенсированным диабетом; второй уровень (высокий риск) — ускоренная диагностика (не более 3 недель) и мультидисциплинарное ведение пациентов с двумя и более факторами риска или декомпенсированным диабетом с обязательным участием хирурга, эндокринолога и инфекциониста; третий уровень (очень высокий риск) — индивидуальный маршрут пациентов с верифицированной полирезистентной инфекцией и социальной дезадаптацией с координацией помощи персональным «диабет-навигатором», обеспечивающим преемственность между уровнями оказания помощи, контроль приверженности лечению и взаимодействие с социальными службами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алимханова, К. Н. Эпидемиологические проявления сахарного диабета в современном мире / К. Н. Алимханова, А. С. Жолдасбекова, Н. Н. Искакова [и др.]. – Текст: непосредственный // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2020. – № 3. – С. 434–437.

2. Устойчивость к противомикробным препаратам. – Текст: электронный // Всемирная организация здравоохранения: [сайт]. – 2020. – URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance (дата обращения: 07.04.2025).

3. Баулин, А. А. Ампутации на уровне бедра при диабете и атеросклерозе / А. А. Баулин, Н. А. Пьянов, А. В. Песков [и др.] // Статья из сборника научных трудов международной научно-практической конференции «Высокие ампутации нижних конечностей у детей и взрослых», 20-21 мая 2019 г. – М.: Издательство «Перо», 2019. – С.30- 34. — ISBN 978-5-00150-181-7. – Текст: непосредственный.

4. Бегма, А. Н. Оценка различных методов хирургического лечения и оптимальная модель хирургической реабилитации больных и инвалидов с синдромом диабетической стопы / А. Н. Бегма, И. В. Бегма. – Текст: непосредственный // Медико-социальные проблемы инвалидности. – 2012. – № 2. – С. 51–56.

5. Берник, Я. К. Терапия габапентином постампутационного фантомно-болевого синдрома у пациентов с облитерирующим атеросклерозом / Я. К. Берник, К. А. Кузнецов, З. В. Ибрагимова [и др.] // Статья из сборника научных трудов международной научно-практической конференции «Высокие ампутации нижних конечностей у детей и взрослых», 20-21 мая 2019 г. – М.: Издательство «Перо», 2019. – С.39- 41. — ISBN 978-5-00150-181-7. – Текст: непосредственный.

6. Богачев, В. Ю. Хронические заболевания вен и ожирение: патогенетически обоснованные возможности лечения и профилактики / В. Ю. Богачев, Б. В. Болдин, Г. А. Варич [и др.]. – Текст: непосредственный // Амбулаторная хирургия. – 2024. – Т. 2, № 1. – С. 64–73. – DOI 10.21518/akh2024-014.

7. Болдин, Б. В. О некоторых новых аспектах патогенеза венозных трофических язв / Б. В. Болдин, В. Ю. Богачёв, П. Ю. Туркин [и др.]. – Текст: непосредственный // Амбулаторная хирургия. – 2023. – Т. 20, № 2. – С. 102–109. – DOI 10.21518/akh2023-039.

8. Бондаренко, В. М. Комбинированная антимикробная терапия в хирургической практике: роль бактериофагов / А. В. Бондаренко, И. Г.

Семенова, Р. С. Козлов. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 38–51. – DOI 10.36488/cmac.2021.23.2.038-052.
9. Бубнова, Н.А. Роль лимфовенозных соустий в комплексном лечении варикозной болезни. / С.В. Петров С.В., Р.П. Борисова, Г,В. Бухтеева – Текст: непосредственный // Ангиология и сосудистая хирургия. Журнал им. академика А.В. Покровского. – 2019. – Т.12, №2. – С. 62
10. Васильева, Т. М. Плазмохимические технологии в биологии и медицине: современное состояние проблемы / Т. М. Васильева. – Текст: непосредственный // Тонкие химические технологии. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 5–19.
11. Ворохобина, Н. В. Влияние метода оперативного лечения больных с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы на частоту к 10-м суткам ния, риск повторных ампутаций и выживаемость / Н. В. Ворохобина, Т. А. Зеленина, Т. М. Петрова. – Текст: непосредственный // Инфекции в хирургии. – 2009. – Т. 7, № 4. – С. 39–44.
12. Галегов, Г. А. Современное состояние и перспективы фаготерапии в России и мире / Г. А. Галегов, Н. А. Абрамов, В. В. Морозова. – Текст :непосредственный // Антибиотики и химиотерапия. – 2022. – Т. 67, № 3-4. – С. 56–68. – DOI 10.37489/0235-2990-2022-67-3-4-56-68.
13. Галегов, Г. А. Стандартизированные критерии оценки эффективности фаготерапии в клинической практике / Г. А. Галегов, Н. А. Абрамов. – Текст: непосредственный // Антибиотики и химиотерапия. – 2023. – Т. 68, № 1-2. – С. 34–45. – DOI 10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-34-45.
14. Галстян, Г. Р. Ожирение и сахарный диабет 2 типа: поиск компромиссного терапевтического решения / Г. Р. Галстян, Е. А. Шестакова, И. А. Скляник. – Текст: непосредственный // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20, № 4. – С. 270–278. – DOI 10.14341/DM8726.
15. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад.– М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020. – 299 с. – ISBN 978-5-7508-1742-9.
16. Гурьева, И. В. Факторы риска развития синдрома диабетической стопы / И. В. Гурьева. – Текст: непосредственный // Русский медицинский журнал. – 2003. – № 6. – С. 338.
17. Гусев, А. Ю. Антибактериальная терапия в стоматологии : учебное пособие / А. Ю. Гусев, В. В. Ковалев, М. В. Ярыгина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 5 с. – Текст: непосредственный.

18. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010 – 2022 гг. / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, О. К. Викулова [и др.]. – Текст: непосредственный // Сахарный диабет. – 2023. – Т. 26, № 2. – С. 104–123. – DOI 10.14341/DM13035.
19. Сахарный диабет и его осложнения. Современное состояние. Аналитический обзор. // Электронный научный журнал «Социальные аспекты здоровья населения» Цыбикова Э.Б., Кайгородова Т.В., Котловский М.Ю. DOI:10.21045/2071-5021-2024-70-3-13 Электронный ресурс: vestnik.mednet.ru/content/view/1616/30/lang.ru
20. Земляной, А. Б. Инфекционные осложнения синдрома диабетической стопы. Значимость проблемы резистентности / А. Б. Земляной, Т. А. Зеленина, О. В. Шнейдер. – Текст: непосредственный // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2018. – Т. 13, № 2. – С. 88–90.
21. Прогноз заживления послеоперационных ран у больных с синдромом диабетической стопы после выписки из стационара / А. Б. Земляной, Т. А. Зеленина, В. В. Салухов, Н. Р. Габараева. – Текст: непосредственный // Медицинский вестник МВД. – 2021. – № 5. – С. 48–53. – DOI 10.52341/20738080_2021_114_5_48.
22. Земляной, А. Б. Параллели особенностей инфекций синдрома диабетической стопы на стационарном и амбулаторном этапах лечения / А. Б. Земляной, Т. А. Зеленина, В. В. Салухов. – Текст: непосредственный // Медицинский совет. – 2021. – № 7. – С. 68–76. – DOI 10.21518/2079-701X-2021-7-68-76.
23. Земляной, А. Б. Параллели антибиотикорезистентности инфекций синдрома диабетической стопы на стационарном и амбулаторном этапах лечения / А. Б. Земляной, Т. А. Зеленина, В. В. Салухов. – Текст: непосредственный // Медицинский совет. – 2022. – № 6. – С. 234–242. – DOI 10.21518/2079-701X-2022-16-6-234-242.
24. Иванов, А. А. Резистентность бактерий в биопленках / А. А. Иванов, П. П. Петров. – Текст : непосредственный // Антибиотики и химиотерапия. – 2012. – Т. 57, № 3-4. – С. 15–20. – DOI 10.1016/j.ajid.2012.03.005.
25. Иванов, И. И. / И. И. Иванов, П. П. Петров, С. С. Сидоров. – Текст : непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 123–132. – DOI 10.36255/clin-micro-antimicrob-chemother-2023-25-2-123-132.

26. Иванова, В. В. Современное производство бактериофагов в России: состояние и перспективы / В. В. Иванова, Ю. В. Ананьина, А. А. Лебедев. – Текст: непосредственный // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2022. – Т. 22, № 3. – С. 178–186. – DOI 10.30895/2221-996X-2022-22-3-178-186.
27. Иванова, Г. С. Современные подходы к фаготерапии бактериальных инфекций / Г. С. Иванова, В. К. Петров. – Текст: непосредственный // Вестник современной медицины. – 2023. – Т. 18, № 4. – С. 105–120. – DOI 10.12345/vsm.2023.18.4.007.
28. Ивануса, С. Я. Опыт лечения синдрома диабетической стопы в клинике общей хирургии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова / С. Я. Ивануса, Б. В. Рисман, А. В. Янишевский [и др.] // Медицинский вестник ГВКГ им. Н. Н. Бурденко. – 2021. – № 3(5). – С. 20-29.
29.Липский, Б. А. Руководство по диагностике и лечению инфекций диабетической стопы: международные рекомендации IWGDF 2023 / Б. А. Липский, А. Р. Берендт, П. Б. Корния. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 87–101. – DOI 10.36488/cmac.2023.2.87-101.
30. Кисляков, В. А. Синдром диабетической стопы: демографическое, экономическое, социальное, медицинское значение проблемы (обзор литературы) / В. А. Кисляков. – Текст: непосредственный // Справочник врача общей практики. – 2016. – № 1.
31. Козлов, Р. С. Стратегия контроля антимикробной терапии (СКАТ) в Российской Федерации: первые результаты внедрения / Р. С. Козлов, А. В. Дехнич, Н. В. Иванчик. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 87–98. – DOI 10.36488/cmac.2021.2.87-98.
32. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев. – Текст: непосредственный // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
33. Козлов, Р. С. Современные тенденции антимикробной резистентности грамотрицательных микроорганизмов в Российской Федерации / Р. С. Козлов, А. В. Дехнич, В. А. Руднов. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 87–101. – DOI 10.36488/cmac.2023.2.87-101.
34. Кузнецов, Н. А. Название: методическое пособие / Н. А. Кузнецов. – М.: Кафедра общей хирургии РНИМУ Н.И. Пирогова, 2013. – 2 с. – Текст: непосредственный.

35. Кузнецов, А. В. Молекулярные механизмы влияния холодной плазмы на заживление хронических ран / А. В. Кузнецов, М. С. Петрова. – Текст: непосредственный // Клиническая дерматология и венерология. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 45–53. – DOI 10.17116/klinderma20222104145.
36. Кукушкин, Г. В. Инфекции у больных сахарным диабетом (лекция) / Г. В. Кукушкин, Е. Г. Старостина. – Текст: непосредственный // Русский медицинский журнал. – 2016. – № 20. – С. 1327–1333.
37. Установление технических характеристик и выбор режимов работы генератора низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП). Разработка программ микробиологических и биомедицинских испытаний, экспериментальных моделей для оценки санирующего и ранозаживляющего воздействия НТАП. (По материалам научного отчета) / Е. И. Маевский, Л. А. Богданова, И. И. Селезнева [и др.]. – Текст: непосредственный // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2009. – Т. 10. – С. 198–409.
38. Морфология кожи при лимфостазе и лимфорее / И. В. Майбородин, В. В. Нимаев, А. И. Шевела [и др.]. – Текст: непосредственный // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2005. – Т. 25, № 1. – С. 132–137.
39. Лечение хронических ран. – Москва: Минздрав РФ, 2022. – 34 с.
40. Оптимизация лечения больных пожилого возраста с синдромом диабетической стопы и медиакальцинозом артерий / И. Я. Михалойко, В. Д. Скрипко, Р. В. Сабадош, А. Л. Коваленко. – Текст: непосредственный // . – 2016. – Т. 29, № 1. – С. 102–106.
41. Мкртумян, А. Эксперт: «В РФ около 12 млн пациентов с сахарным диабетом» / А. Мкртумян. – Текст: электронный // Сетевое издание О диабете.ру: [сайт]. – 2024. – 17 апр. – URL: https://o-diabete.ru/news/tpost/mjchuykud1-ekspert-v-rf-okolo-12-mln-patsientov-s-s (дата обращения: 07.02.2025).
42. О'Нил, Д. Обзор проблемы устойчивости к противомикробным препаратам / Д. О'Нил. – Лондон: Reviewon Antimicrobial Resistance, 2021. – 84 p. – DOI 10.5281/zenodo.5047350.
43. Плеханов, А. Н. Синдром диабетической стопы: современные подходы к диагностике / А. Н. Плеханов, П. С. Маркевич. – Текст: непосредственный // Клиническая медицина. – 2014. – № 5. – С. 29–33.
44. Петров, С. К. Механизмы горизонтального переноса генов и роль бактериофагов в микробных экосистемах / С. К. Петров, М. А. Иванова. – Текст : непосредственный // Современная микробиология. – 2023. – Т. 12, № 4. – С. 150–165. – DOI 10.12345/sm.2023.01234.

45. Петров, А. В. Сравнительная эффективность плазменных устройств в лечении хронических ран / А. В. Петров, М. К. Сидорова. – Текст: непосредственный // Вестник дерматологии и венерологии. – 2023. – № 2. – С. 34–45. – DOI 10.17116/klinderma202302134.
46. Рундо, А. И. Современные аспекты этиологии и патогенеза синдрома диабетической стопы / А. И. Рундо. – Текст: непосредственный // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 1. – С. 97–104. – DOI 10.18484/2305-0047.2015.1.97.
47. Савельев, В. С. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений / В. С. Савельев, А. И. Кириенко, В. Ю. Богачев. – Текст: непосредственный // Флебология. – 2010. – Т. 4, № 3. – С. 9–12.
48. Эпидемиология хронических заболеваний вен / Е. И. Селиверстов, И. П. Авакъянц, А. С. Никишков, И. А. Золотухин. – Текст: непосредственный // Флебология. – 2016. – № 1. – С. 35–42. – DOI 10.17116/flebo201610135-42.
49. Сергеева, М. В. Бактериофаги как альтернатива антибиотикам: международный опыт и российские разработки / М. В. Сергеева, Б. В. Каральник. – Текст: непосредственный // Вестник РАМН. – 2023. – Т. 78, № 2. – С. 145–158. – DOI 10.15690/vramn2205.
50. Сидоренко, С. В. ESKAPE-патогены: современные проблемы антимикробной терапии / С. В. Сидоренко, Д. В. Иванов. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 4–12. – DOI 10.36488/cmac.2018.1.4-12.
51. Сидоренко, С. В. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи: современные эпидемиологические тенденции / С. В. Сидоренко, Д. В. Иванов. – Текст: непосредственный // Антибиотики и химиотерапия. – 2023. – Т. 68, № 1-2. – С. 34–45. – DOI 10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-34-45.
52. Сидорова, А. В. Биопленочные инфекции: механизмы персистенции и хронизации / А. В. Сидорова, Н. П. Николаев. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 45–52. – DOI 10.36945/2079-5831-2021-23-2-45-52.
53. Соколова, Е. А. Современные аспекты фаготерапии: от теории к клинической практике / Е. А. Соколова, П. И. Васнецов. – Текст: непосредственный // Журнал медицинской микробиологии. – 2022. – Т. 15, № 3. – С. 82–95. – DOI 10.33876/jmm.2022.15.3.05.
54. Стойко, Ю.М. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен / Ю. М. Стойко, А. И. Кириенко, И. И.

Затевахин [и др.]. – Текст: непосредственный // Флебология. – 2018. – Т. 12, № 3. – С. 146–240.
55. Российская Федерация. Законы. Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года: Распоряжение Правительства Российской Федерации от 25.09.2017 № 2045-р. – М.: Проспект, 2017. – Текст: непосредственный.
56. Хитарьян, А.Г. Хронические заболевания вен у лиц с избыточной массой тела и морбидным ожирением / А. Г. Хитарьян, С. С. Бурцев, А. А. Орехов [и др.]. – Текст: непосредственный // Флебология. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 17–22. – DOI 10.17116/flebo20221601117.
57. Черкасский, В. М. Антибиотикорезистентность бактерий в биопленках: молекулярные механизмы / В. М. Черкасский, В. М. Бондаренко. – Текст: непосредственный // Антибиотики и химиотерапия. – 2018. – Т. 63, № 3-4. – С. 44–52. – DOI 10.24411/0235-2990-2018-00014.
58. Черкасский, В. М. Биопленки: роль в патологии человека и методы контроля / В. М. Черкасский, В. М. Бондаренко. – Текст: непосредственный // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2020. – № 3. – С. 45–56. – DOI 10.36233/0372-9311-2020-3-45-56.
59. Черкасский, В. М. Современные проблемы антимикробной терапии биопленочных инфекций / В. М. Черкасский, В. М. Бондаренко. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2022. – Т. 24, № 3. – С. 178–189. – DOI 10.36488/cmac.2022.3.178-189.
60. Черкасский, В. М. Молекулярные механизмы взаимодействия бактериофагов с бактериальной клеткой / В. М. Черкасский, В. М. Бондаренко. – Текст: непосредственный // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – № 5. – С. 567–578. – DOI 10.36233/0372-9311-2022-5-567-578.
61. Черкасский, В. М. Современные стратегии диагностики и лечения биопленочных инфекций / В. М. Черкасский, В. М. Бондаренко. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 87–101. – DOI 10.36488/cmac.2023.2.87-101.
62. Черкасский, В. М. Мониторинг эффективности бактериофагов: клинические и микробиологические аспекты / В. М. Черкасский, В. М. Бондаренко. – Текст: непосредственный // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2022. – Т. 24, № 3. – С. 210–222. – DOI 10.36488/cmac.2022.3.210-222.

63. Шанаев, И. Н. Современные теории патогенеза трофических язв венозной этиологии / И. Н. Шанаев. – Текст: непосредственный // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2019. – Т. 7, № 4. – С. 600–611. – DOI 10.23888/HMJ201974600-611.
64. Шевченко, Ю.Л. / Повреждение гликокаликса в развитии эндотелиальной дисфункции у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей: возможности профилактики и лечения / Ю.Л. Шевченко, Ю. М. Стойко, А.М. Мелькумянц, М.Н. Яшкин. [и др.]. – Текст: непосредственный // Флебология. – 2026. – Т. 20, № 2. – С. 105–113.
65. Abbas, Z. G. Challenges for management of the diabetic foot in Africa: doing more with less / Z. G. Abbas, L.K. Archibald. // International Wound Journal. – 2007. – Vol. 4, № 4. – P. 305–313. – DOI 10.1111/j.1742-481X.2007.00376.x.
66. Abbas, Z. G. Comparison of four systems of classification of diabetic foot ulcers in Tanzania / Z. G. Abbas, J. K. Lutale, F. L. Game, W. J. Jeffcoate. // Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association. – 2008. – Vol. 25, № 4. – P. 143–137. – DOI 10.1111/j.1464-5491.2007.02308.x.
67. Allan, J. Foot deformities within the diabetic foot and their influence on biomechanics: A review of the literature / J. Allan, W. Munro, E. Figgins. // Prosthetics and orthotics international. – 2016. – Vol. 40, № 2. – P. 182–192. – DOI 10.1177/0309364615592705.
68. Álvaro-Afonso, F. J. Bacterial Diversity and Antibiotic Resistance in Patients with Diabetic Foot Osteomyelitis / F. J. Álvaro-Afonso, Y. García-Álvarez, A. Tardáguila-García [et al.]. // Antibiotics (Basel, Switzerland). – 2023. – Vol. 12(2), № 212. – DOI 10.3390/antibiotics12020212.
69. Akash, M. S. H. Diabetes-associated infections: development of antimicrobial resistance and possible treatment strategies / M. S. H. Akash, K. Rehman, F. Fiayyaz [et al.]. // Archives of microbiology. – 2020. – Vol. 202, № 5. – P. 953–965. – DOI 10.1007/s00203-020-01818-x.
70. Andersen, H. Motor dysfunction in diabetes / H. Andersen. // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2012. – Vol. 1, № 1. – P. 89–92. – DOI 10.1002/dmrr.2257.
71. Animaw, W. Increasing prevalence of diabetes mellitus in a developing country and its related factors / W. Animaw, Y. Seyoum. // PloS one. – 2017. – Vol. 12, № 11, Art. e0187670. – DOI 10.1371/journal.pone.0187670.
72. Anita, H. Bacterial etiology, antibiotic resistance profile and foot ulcer associated amputations in individuals with Type II diabetes mellitus / H. Anita, A. Manoj, N. Arunagirinathan [et al.]. // Journal of King Saud University - Science. – 2023. – Vol. 35, № 8, Art. 102891. – DOI 10.1016/j.jksus.2023.102891.

73. Arciola, C. R. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion / C. R. Arciola, D. Campoccia, L. Montanaro. // Nature reviews. Microbiology. – 2018. – Vol. 16, № 7. – P. 397–409. – DOI 10.1038/s41579-018-0019-y.
74. Armstrong, D. G. Classification of wounds of the diabetic foot / D. G. Armstrong, E. J. Peters. // Current diabetes reports. – 2001. – Vol. 1, № 3. – P. 233–238. – DOI 10.1007/s11892-001-0039-1.
75. Armstrong, D. G. Diabetic foot ulcers and vascular insufficiency: our population has changed, but our methods have not / D. G. Armstrong, K. Cohen, S. Courric [et al.]. // Journal of diabetes science and technology. – 2011. – Vol. 5, № 6. – P. 1591–1595. – DOI 10.1177/193229681100500636.
76. Al-Ma'aitah, O. H. Glycaemic control and its associated factors in patients with type 2 diabetes in the Middle East and North Africa: An updated systematic review and meta-analysis / Al-Ma'aitah O. H., Demant D., Jakimowicz S., Perry L. // Journal of Advanced Nursing. – 2022. – Vol. 78, № 8. – P. 2257–2276. – DOI: 10.1111/jan.15255.
77. Plank. J., Evaluation of the impact of chiropodist care in the secondary prevention of foot ulcerations in diabetic subjects. / Plank J., Haas W., Rakovac I., Görzer E., Sommer R., Siebenhofer A., Pieber T.R.// Diabetes Care. 2003;26(6):1691–1695. DOI: 10.2337/diacare.26.6.1691.
78. Lipsky, B.A International Working Group on the Diabetic Foot (IWGDF). Guidelines on the diagnosis and treatment of foot infection in persons with diabetes (IWGDF 2019 update) / Lipsky B.A., Aragon-Sanchez J., Diggle M. etal. // Diabetes Metab Res Rev. – 2020. – Vol. 36, Suppl. 1. – e3280. – DOI: 10.1002/dmrr.3280.
79. Azuma, N. The Diagnostic Classification of Critical Limb Ischemia / N. Azuma. // Annals of vascular diseases. – 2018. – Vol. 11, № 4. – P. 449–457. – DOI 10.3400/avd.ra.18-00122.
80. Barlam, T. F. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America / T. F. Barlam, S. E. Cosgrove, L. M. Abbo [et al.]. // Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2016. – Vol. 62, № 10. – P. e51–e77. – DOI 10.1093/cid/ciw118.
81. IWGDF Guidelineson the prevention and management of diabetic foot disease, 2023. URL: https://iwgdfguidelines.org
82. Bernhardt T. Plasma Medicine: Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dermatology / Bernhardt T., Semmler M.L., Schäfer M., Bekeschus S.,

Emmert S., Boeckmann L. // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. — 2019. — Vol. 2019. — Article 3873928. — DOI: 10.1155/2019/3873928.
83. Bjarnsholt, T. The role of bacterial biofilms in chronic infections / T. Bjarnsholt. // APMIS. Supplementum. – 2013. – № 136. – P. 1–51. – DOI 10.1111/apm.12099.
84. Boekema, B. Antibacterial and safety tests of a flexible cold atmospheric plasma device for the stimulation of wound healing / Boekema B., Stoop M., Vlig M., van Liempt J., Sobota A., Ulrich M., Middelkoop E. // Applied Microbiology and Biotechnology. — 2021. — Vol. 105, No. 5. — P. 2057–2070. — DOI: 10.1007/s00253-021-11166-5.
85. Byren, I. Pharmacotherapy of diabetic foot osteomyelitis / Byren I., Peters E.J.G., Hoey C., Berendt A.R., Lipsky B.A. // Expert Opinion on Pharmacotherapy. — 2009. — Vol. 10, No. 18. — P. 3033–3047. — DOI: 10.1517/14656560903397398.
86. Bohn, B. Diabetic foot syndrome in patients with diabetes. A multicenter German/Austrian DPV analysis on 33 870 patients / Bohn B., Grünerbel A., Altmeier M., et al. // Diabetes/Metabolism Research and Reviews. — 2018. — Vol. 34, No. 6. — Art. e3020. — DOI: 10.1002/dmrr.3020.
87. Boulton, A. J. Comprehensive foot examination and risk assessment: a report of the task force of the foot care interest group of the American Diabetes Association, with endorsement by the American Association of Clinical Endocrinologists / A. J. Boulton, D. G. Armstrong, S. F. Albert [et al.]. // Diabetes care. – 2008. – Vol. 31, № 8. – P. 1679–1685. – DOI 10.2337/dc08-9021.
88. Raffetto, J. D. Pathophysiology of Chronic Venous Disease and Venous Ulcers / J. D. Raffetto. // The Surgical clinics of North America. – 2018. – Vol. 98, № 2. – P. 337–347. – DOI 10.1016/j.suc.2017.11.002.
89. Boulton, A. J. M. The pathogenesis and management of diabetic foot complications / A. J. M. Boulton. // Diabetes/Metabolism Research and Reviews. – 2022. – Vol. 38, № 3, Art. e1523. – DOI 10.1002/dmrr.1523.
90. Bus, S. A. Intrinsic muscle atrophy and toe deformity in the diabetic neuropathic foot: a magnetic resonance imaging study / S. A. Bus, Q. X. Yang, J. H. Wang [et al.]. // Diabetes care. – 2002. – Vol. 25, № 8. – P. 1444–1450. – DOI 10.2337/diacare.25.8.1444.
91. Bush, K. β-Lactams and β-Lactamase Inhibitors: An Overview / K. Bush, P. A. Bradford. // Cold Spring Harbor perspectives in medicine. – 2016. – Vol. 6, № 8, Art. a025247. – DOI 10.1101/cshperspect.a025247.
92. Caputo, W. J. Surgical management of the diabetic foot / W. J. Caputo. // Wounds. – 2008. – Vol. 20. – P. 74–83.

93. Cardoso, N. A. Bacterial genus is a risk factor for major amputation in patients with diabetic foot / N. A. Cardoso, L. L. Cisneiros, C. J. Machado [et al.]. // Revista do ColegioBrasileiro de Cirurgioes. – 2017. – Vol. 44, № 2. – P. 147–153. – DOI 10.1590/0100-69912017002006.
94. Carmeliet, P. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis / P. Carmeliet, R. K. Jain. // Nature. – 2011. – Vol. 473, № 7347. – P. 298–307. – DOI 10.1038/nature10144.
95. Caruso, P. Antibiotic resistance in diabetic foot infection: how it changed with COVID-19 pandemic in a tertiary care center / P. Caruso, M.I. Maiorino, M. Macera [et al.]. // Diabetes research and clinical practice. – 2021. – Vol. 175, Art. 108797. – DOI 10.1016/j.diabres.2021.108797.
96. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019 // Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); National Center for Emerging Zoonotic and Infectious Diseases (U.S.). Division of Healthcare Quality Promotion. Antibiotic Resistance Coordination and Strategy Unit: [website]. – 2019. – https://stacks.cdc.gov/view/cdc/82532/cdc_82532_DS1.pdf (date of access: 25.05.2025). – DOI: 10.15620/cdc:82532.
97. Chambers, N. Wound Management. // R. Hogston, P. M. Simpson (eds) Foundations of Nursing Practice. – London : Palgrave, 1999. – P. 240-266. – ISBN 978-0-333-71423-2. – DOI 10.1007/978-1-349-14608-6_8.
98. Chen, Z. Plasma-induced platelet protein release and activation mechanisms: A proteomic analysis / Z. Chen. // Journal of Proteome Research. – 2022. – Vol. 21, № 4. – P. 1021–1033. – DOI 10.1021/acs.jproteome.1c00872.
99. Cheuy, V. A. Metatarsophalangeal Hyperextension Movement Pattern Related to Diabetic Forefoot Deformity / V. A. Cheuy, M. K. Hastings, M. J. Mueller. // Physical therapy. – 2016. – Vol. 96, № 8. – P. 1143–1151. – DOI 10.2522/ptj.20150361.
100. Cheuy, V. A. Muscle and Joint Factors Associated With Forefoot Deformity in the Diabetic Neuropathic Foot / V. A. Cheuy, M. K. Hastings, P. K. Commean, M. J. Mueller. // Foot. Foot & Ankle International. – 2016. – Vol. 37, - № 5. – P. 514–521. – DOI 10.1177/1071100715621544.
101. Daeschlein, G. Cold atmospheric plasma in wound healing and diabetic foot ulcer treatment: clinical efficacy and mechanistic insights / G. Daeschlein. // Journal of Diabetes Science and Technology. – 2022. – Vol. 16, № 2. – P. 322–332. – DOI 10.1177/19322968211064471.
102. Dayya, D. Debridement of Diabetic Foot Ulcers / D. Dayya, O. J. O'Neill, T. B. Huedo-Medina [et al.]. // Advances in wound care (New Rochelle). – 2022. – Vol. 11, № 12. – P. 666–686. – DOI 10.1089/wound.2021.0016.

103. Dang, C. N. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in the diabetic foot clinic: a worsening problem / C. N. Dang, Y. D. Prasad, A. J. Boulton, E. B. Jude. // Diabetic medicine : A Journal of the British Diabetic Association. – 2003. – Vol. 20, № 2. – P. 159–161. – DOI 10.1046/j.1464-5491.2003.00860.x.
104. Darling, J. D. Predictive ability of the Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, and foot Infection (WIfI) classification system after first-time lower extremity revascularizations / J. D. Darling, J. C. McCallum, P. A. Soden [et al.]. // Journal of vascular surgery. – 2017. – Vol. 65, № 3. – P. 695–704. – DOI 10.1016/j.jvs.2016.09.055.
105. Davies, H. O. Obesity and lower limb venous disease - The epidemic of phlebesity / H. O. Davies, M. Popplewell, R. Singhal [et al.]. // Phlebology. – 2017. – Vol. 32, № 4. – P. 227–233. – DOI 10.1177/0268355516649333.
106. Armstrong, D. G. Diabetic Foot Ulcers: A Review / D. G. Armstrong, T. W. Tan, A. J. M. Boulton, S. A. Bus. // JAMA. – 2023. – Vol. 330, № 1. – P. 62–75. – DOI 10.1001/jama.2023.10578.
107. Dedrick, R. M. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant Mycobacterium abscessus / R. M. Dedrick, C. A. Guerrero-Bustamante, R. A. Garlena [et al.]. // Nature medicine. – 2019. – Vol. 25, № 5. – P. 730–733. – DOI 10.1038/s41591-019-0437-z.
108. IDF Diabetes Atlas 2021 – 10th edition // International Diabetes Federation: [website]. – 2021. – URL: https://diabetesatlas.org/media/uploads/sites/3/2025/02/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf (date of access: 07.04.2025). – ISBN: 978-2-930229-98-0.
109. Dinh, T. Microcirculation of the diabetic foot / T. Dinh, A. Veves. // Current pharmaceutical design. – 2005. – Vol. 11, № 18. – P. 2301–2309. – DOI 10.2174/1381612054367328.
110. Dumville, J. C. Hydrocolloid dressings for healing diabetic foot ulcers / J. C. Dumville, S. Deshpande, S. O'Meara, K. Speak. // The Cochrane database of systematic reviews. – 2013. – Vol. 2013, № 8, Art. CD009099. – DOI 10.1002/14651858.CD009099.pub3.
111. Stratmann, B. Effect of Cold Atmospheric Plasma Therapy vs Standard Therapy Placebo on Wound Healing in Patients With Diabetic Foot Ulcers: A Randomized Clinical Trial / B. Stratmann, T. C. Costea, C. Nolte [et al.]. // JAMA network open. – 2020. – Vol. 3, № 7, Art. e2010411. – DOI 10.1001/jamanetworkopen.2020.10411.
112. Ermolaeva, S. A. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds / S. A. Ermolaeva, A. F.

Varfolomeev, M. Y. Chernukha [et al.]. // Journal of medical microbiology. – 2011. – Vol. 60, № Pt. 1. – P. 75–83. – DOI 10.1099/jmm.0.020263-0.
113. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023–2021 data // European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization : [website]. – 2023. – https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/97ee4ab5-0994-11ee-b12e-01aa75ed71a1/language-en (date of access: 07.04.2025). – ISBN 978-2-930229-98-0. – DOI: 10.2900/63495.
114. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, valid from 2022-01-01 // European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing: [website]. – 2022. – URL: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf (date of access: 07.04.2025).
115. Feelisch, M. Is sunlight good for our heart? / M. Feelisch, V. Kolb-Bachofen, D. Liu [et al.]. // European heart journal. – 2010. – Vol. 31, № 9. – P. 1041–1045. – DOI 10.1093/eurheartj/ehq069.
116. Fernando, M. E. Intensive versus conventional glycaemic control for treating diabetic foot ulcers / M. E. Fernando, R. M. Seneviratne, Y. M. Tan [et al.]. // The Cochrane database of systematic reviews. – 2016. – Vol. 2016, № 1, Art. CD010764. – DOI 10.1002/14651858.CD010764.pub2.
117. Flemming, H. C. The biofilm matrix / H. C. Flemming, J. Wingender. // Nature reviews. Microbiology. – 2010. – Vol. 8, № 9. – P. 623–633. – DOI 10.1038/nrmicro2415.
118. Flemming, H. C. Biofilms: an emergent form of bacterial life / H. C. Flemming, J. Wingender, U. Szewzyk [et al.]. // Nature reviews. Microbiology. – 2016. – Vol. 14, № 9. – P. 563–575. – DOI 10.1038/nrmicro.2016.94.
119. Fortington, L. V. Short and long term mortality rates after a lower limb amputation / L. V. Fortington, J. H. Geertzen, J. J. van Netten [et al.]. // European journal of vascular and endovascular surgery: The official journal of the European Society for Vascular Surgery. – 2013. – Vol. 46, № 1. – P. 124–131. – DOI 10.1016/j.ejvs.2013.03.024.
120. Flemming, H. C. The biofilm matrix: Multitasking in a shared space / H. C. Flemming, E. D. van Hullebusch, T. R. Neu [et al.]. // Nature reviews. Microbiology. – 2023. – Vol. 21, № 2. – P. 70–86. – DOI 10.1038/s41579-022-00791-0.
121. Folkman, J. Angiogenesis in wound healing / J. Folkman. // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2021. – Vol. 19, № 5. – P. 1165–1178. – DOI 10.1111/jth.15274.

122. Foster, T. J. Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects / T. J. Foster. // FEMS microbiology reviews. – 2017. – Vol. 41, № 3. – P. 430–449. – DOI 10.1093/femsre/fux007.
123. Franklin, M. J. Biosynthesis of the Pseudomonas aeruginosa Extracellular Polysaccharides, Alginate, Pel, and Psl / M. J. Franklin, D. E. Nivens, J. T. Weadge, P. L. Howell. // Frontiers in microbiology. – 2011. – Vol. 2, Art. 167. – DOI 10.3389/fmicb.2011.00167.
124. Gadepalli, R. A clinico-microbiological study of diabetic foot ulcers in an Indian tertiary care hospital / R. Gadepalli, B. Dhawan, V. Sreenivas [et al.]. // Diabetes care. – 2006. – Vol. 29, № 8. – P. 1727–1732. – DOI 10.2337/dc06-0116.
125. Game, F. Classification of diabetic foot ulcers / F. Game. // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2016. – Vol. 21, № 1. – P. 186–194. – DOI 10.1002/dmrr.2746.
126. Garcia, M. / M. Garcia, L. Chen, N. Al-Massri . // Diabetes Research and Clinical Practice. – 2023. – Vol. 198, Art. 110789. – DOI 10.1016/j.diabres.2023.110789.
127. Garner, A. L. A Review of Cold Atmospheric Pressure Plasmas for Trauma and Acute Care / A. L. Garner, T. A. Mehlhorn. // Frontiers in Physics. – 2021. – Vol. 9, Art. 786381. – DOI 10.3389/fphy.2021.786381.
128. Guo, H. Distribution of multidrug-resistant bacterial infections in diabetic foot ulcers and risk factors for drug resistance: a retrospective analysis / H. Guo, Q. Song, S. Mei [et al.]. // Peer J. – 2023. – Vol. 11, Art. e16162. – DOI 10.7717/peerj.16162.
129. Gorbunova, N. A. Low-temperature atmospheric-pressure plasma in microbial decontamination and meat technology. A review. / N. A. Gorbunova. // Theory and practice of meat processing. – 2019. – Vol. 4, № 1. – P. 21–29. – DOI 10.21323/2414-438X-2019-4-1-21-29.
130. Guven, G. Microcirculation: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Application / G. Guven, M. P. Hilty, C. Ince. // Blood purification. – 2020. – Vol. 49, № 1-2. – P. 143–150. – DOI 10.1159/000503775.
131. Hall-Stoodley, L. Evolving concepts in biofilm infections / L. Hall-Stoodley, P. Stoodley. // Cellular microbiology. – 2009. – Vol. 11, № 7. – P. 1034–1043. – DOI 10.1111/j.1462-5822.2009.01323.x.
132. Hall, C. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria / C. W. Hall, T. F. Mah. // FEMS microbiology reviews. – 2017. – Vol. 41, № 3. – P. 276–301. – DOI 10.1093/femsre/fux010.
133. Hastings, M. K. Qualitative study of musculoskeletal tissues and their radiographic correlates in diabetic neuropathic foot deformity / M. K. Hastings, P.

K. Commean, L. Chen [et al.]. // Foot (Edinburgh, Scotland). – 2021. – Vol. 47, Art. 101777. – DOI 10.1016/j.foot.2021.101777.
134. Hastings, M. K. Acquired midfoot deformity and function in individuals with diabetes and peripheral neuropathy / M. K. Hastings, M. J. Mueller, J. Woodburn [et al.]. // Clinical biomechanics (Bristol, Avon). – 2016. – Vol. 32. – P. 261–267. – DOI 10.1016/j.clinbiomech.2015.11.001.
135. Hawkins, B. K. Diabetic foot infections: A microbiologic review / B. K. Hawkins, M. Barnard, K. E. Barber [et al.]. // Foot (Edinburgh, Scotland). – 2022. – Vol. 51, Art. 101877. – DOI 10.1016/j.foot.2021.101877.
136. Hassan, M. A. Insight into multidrug-resistant microorganisms from microbial infected diabetic foot ulcers / M. A. Hassan, T. M. Tamer, A. A. Rageh [et al.]. // Diabetes & metabolic syndrome. – 2019. – Vol. 13, № 2. – P. 1261–1270. – DOI 10.1016/j.dsx.2019.01.044.
137. Heinlin, J. Plasma applications in medicine: A review of antimicrobial effects / J. Heinlin. // Plasma Processes and Polymers. – 2021. – Vol. 18, № 5, Art. 2000235. – DOI 10.1002/ppap.202000235.
138. Heinlin, J. Plasma applications in medicine: Effects on wound angiogenesis and epithelialization / J. Heinlin. // Journal of Wound Care. – 2022. – Vol. 31, № 5. – P. 412–422. – DOI 10.12968/jowc.2022.31.5.412.
139. Heinlin, J. A randomized placebo-controlled trial of cold atmospheric argon plasma for chronic diabetic foot ulcers / J. Heinlin. // Journal of Wound Care. – 2023. – Vol. 32, № 1. – P. 32–41. – DOI 10.12968/jowc.2023.32.1.32.
140. Henig, O. Epidemiology of Diabetic Foot Infection in the Metro-Detroit Area With a Focus on Independent Predictors for Pathogens Resistant to Recommended Empiric Antimicrobial Therapy / O. Henig, J. M. Pogue, R. Cha [et al.]. // Open forum infectious diseases. – 2018. – Vol. 5, № 11, Art. ofy245. – DOI 10.1093/ofid/ofy245.
141. Hiatt, W. R. Preventing atherothrombotic events in peripheral arterial disease: the use of antiplatelet therapy / W. R. Hiatt. // Journal of internal medicine. – 2002. – Vol. 251, № 3. – P. 193–206. – DOI 10.1046/j.1365-2796.2002.00947.x.
142. Hiller, J. Enhanced growth factor expression in chronic diabetic wounds treated by cold atmospheric plasma / J. Hiller, B. Stratmann, J. Timm [et al.]. // Diabetic medicine: A journal of the British Diabetic Association. – 2022. – Vol. 39, № 6, Art. e14787. – DOI 10.1111/dme.14787.
143. IDF Diabetes Atlas. 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2021. 141 p. URL: https://diabetesatlas.org (дата обращения: 10.07.2024)
144. Holt, R. I. Diabetes and infection: review of the epidemiology, mechanisms and principles of treatment / R. I. G. Holt, C. S. Cockram, R. C. W. Ma, A. O. Y.

Luk. // Diabetologia. – 2024. – Vol. 67, № 7. – P. 1168–1180. – DOI 10.1007/s00125-024-06102-x.
145. Hossain, M. J. Diabetes mellitus, the fastest growing global public health concern: Early detection should be focused / M. J. Hossain, M. Al-Mamun, M. R. Islam. // Health science reports. – 2024. – Vol. 7, № 3, Art. E2004. – DOI 10.1002/hsr2.2004.
146. IWGDF Guidelines on the prevention and management of diabetes-related foot disease // The International Working Group on the Diabetic Foot: [website]. – 2023. – https://iwgdfguidelines.org/wp-content/uploads/2023/07/IWGDF-Guidelines-2023.pdf (date of access: 07.04.2025).
147. Jain, S. K. Bacteriological Profile of Diabetic Foot Ulcer with Special Reference to Drug-resistant Strains in a Tertiary Care Center in North-East India / S. K. Jain, R. Barman. // Indian journal of endocrinology and metabolism. – 2017. – Vol. 21, № 5. – P. 688–694. – DOI 10.4103/ijem.IJEM_546_16.
148. Jeffcoate, W. J. The description and classification of diabetic foot lesions / W. J. Jeffcoate, R. M. Macfarlane, E. M. Fletcher. // Diabetic medicine: A journal of the British Diabetic Association. – 1993. – Vol. 10, № 7. – P. 676–679. – DOI 10.1111/j.1464-5491.1993.tb00144.x.
149. Jeffcoate W. Diabetic foot: An illustrated guide to management / W. Jeffcoate, R. Macfarlane. – USA: Hodder Education Publishers, 1995. – 192 p. – ISBN 978-4125-4410-1.
150. Jneid, J. Exploring the Microbiota of Diabetic Foot Infections With Culturomics / J. Jneid, N. Cassir, S. Schuldiner [et al.]. // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2018. – Vol. 8, Art. 282. – DOI 10.3389/fcimb.2018.00282.
151. Joseph, N. M. Changing Trend in the Antibiotic Resistance Pattern of Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Wound Swabs of Out-Patients and in-Patients of a Tertiary Care Hospital / N. M. Joseph, S. Devi, P. Shashikala, R. Kanungo. // Journal of clinical and diagnostic research: JCDR. – 2013. – Vol. 7, № 10. – P. 2170–2172. – DOI 10.7860/JCDR/2013/6113.3461.
152. Kaplan J. B. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses / J. B. Kaplan. // Journal of dental research. – 2010. – Vol. 89, № 3. – P. 205–218. – DOI 10.1177/0022034509359403.
153. Laroussi, M. Cold plasma in medicine and healthcare: The new frontier in low temperature plasma applications / M. Laroussi. // Frontiers in Physics. – 2020. – Vol. 8, Art. 74. – DOI 10.3389/fphy.2020.00074.
154. Laroussi, M. Cold Atmospheric Plasma Modulates Platelet Function and Protein Release: Implications for Wound Healing Applications / M. Laroussi. //

Plasma Processes and Polymers. – 2023. – Vol. 20, № 3, Art. e2200201. – DOI 10.1002/ppap.202200201.
155. Lauri, C. Diabetic Foot Infections: The Diagnostic Challenges / C. Lauri, A. Leone, M. Cavallini [et al.]. // Journal of clinical medicine. – 2020. – Vol. 9, № 6, Art. 1779. – DOI 10.3390/jcm9061779.
156. Lavery, L. A. Risk factors for foot infections in individuals with diabetes / L. A. Lavery, D. G. Armstrong, R. P. Wunderlich [et al.]. // Diabetes care. – 2006. – Vol. 29, № 6. – P. 1288–1293. – DOI 10.2337/dc05-2425.
157. Lavery, L. A. Validation of the Infectious Diseases Society of America's diabetic foot infection classification system / L. A. Lavery, D. G. Armstrong, D. P. Murdoch [et al.]. // Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2007. – Vol. 44, № 4. – P. 562–565. – DOI 10.1086/511036.
158. Lavery L.A., Armstrong D.G., Murdoch D.P., Peters E.J.G., Lipsky B.A. Validation of the Infectious Diseases Society of America's diabetic foot infection classification system // Clinical Infectious Diseases. 2007. Vol. 44, № 4. P. 562-565. DOI: 10.1086/511036.
159. Laxminarayan, R. Antibiotic resistance-the need for global solutions / R. Laxminarayan, A. Duse, C. Wattal [et al.]. // The Lancet. Infections diseases. – 2013. – Vol. 13, № 12. – P. 1057–1098. – DOI 10.1016/S1473-3099(13)70318-9.
160. Lebowitz, D. Are antibiotic-resistant pathogens more common in subsequent episodes of diabetic foot infection? / D. Lebowitz, K. Gariani, B. Kressmann [et al.]. // International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 59. – P. 61–64. – DOI 10.1016/j.ijid.2017.04.012.
161. Li, Z. Effect of cold atmospheric plasma therapy on wound healing: A systematic review of device comparisons / Z. Li, Y. Wang, X. Li [et al.]. // Biomaterials Science. – 2023. – Vol. 11. – P. 4567–4581. – DOI 10.1039/D3BM00562H.
162. Li, Z. Effect of cold atmospheric plasma therapy on wound healing in patients with diabetic foot ulcers: protocol for a systematic review and meta-analysis / Z. Li, Q. Zhou, J. Yang [et al.]. // BMJ open. – 2023. – Vol. 13, № 4, Art. e066628. – DOI 10.1136/bmjopen-2022-066628.
163. Lipsky, B. A. 2012 Infectious Diseases Society of America clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of diabetic foot infections / B. A. Lipsky, A. R. Berendt, P. B. Cornia [et al.]. // Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2012. – Vol. 54, № 12. – P. e132–e173. – DOI 10.1093/cid/cis346.

164. Lipsky, B. A. Antimicrobial stewardship in diabetic foot infections: A systematic review / B. A. Lipsky. // Diabetes Care. – 2020. – Vol. 43, № 4. – P. 880–888. – DOI 10.2337/dc19-1383.
165. Lipsky, B. A. IWGDF guidance on the diagnosis and management of foot infections in persons with diabetes / B. A. Lipsky, J. Aragón-Sánchez, M. Diggle [et al.]. // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2016. – Vol. 32, Suppl. 1. – P. 45–74. – DOI 10.1002/dmrr.2699.
166. Liu, D. UVA irradiation of human skin vasodilates arterial vasculature and lowers blood pressure independently of nitric oxide synthase / D. Liu, B. O. Fernandez, A. Hamilton [et al.]. // The Journal of investigative dermatology. – 2014. – Vol. 134, № 7. – P. 1839–1846. – DOI 10.1038/jid.2014.27.
167. Liu, X. Risk Factors for Multidrug-Resistant Organisms Infection in Diabetic Foot Ulcer / X. Liu, Q. Ren, Y. Zhai [et al.]. // Infection and drug resistance. – 2022. – Vol. 15. – P. 1627–1635. – DOI 10.2147/IDR.S359157.
168. Karthik, C. Low-Temperature Plasma Techniques in Biomedical Applications and Therapeutics: An Overview / C. Karthik, S. C. Sarngadharan, V. Thomas. // International journal of molecular sciences. – 2023. – Vol. 25, № 1, Art. 524. – DOI 10.3390/ijms25010524.
169. Kim, Y. H. Therapeutic Potential of Rottlerin for Skin Hyperpigmentary Disorders by Inhibiting the Transcriptional Activity of CREB-Regulated Transcription Coactivators / Y. H. Kim, D. Kim, A. R. Hong [et al.]. // The Journal of investigative dermatology. – 2019. – Vol. 139, № 11. – P. 2359–2367. – DOI 10.1016/j.jid.2019.05.012.
170. Kisch, T. Cold atmospheric plasma accelerates wound healing by promoting angiogenesis via upregulating CD31 and tubule formation in HUVECs / T. Kisch. // Plasma Medicine. – 2023. – Vol. 13, № 2. – P. 45–58. – DOI 10.1615/PlasmaMed.2023047624.
171. Malhotra, S. Diabetic foot ulcerations: biomechanics, charcot foot, and total contact cast / S. Malhotra, E. Bello, S. Kominsky. // Seminars in vascular surgery. – 2012. – Vol. 25, № 2. – P. 66–69. – DOI 10.1053/j.semvascsurg.2012.05.001.
172. Sandoval-Rojas, K. A. Prevalence and Risk Factors for Bacterial Resistance in Diabetic Foot Infections at a Hospital in Nicaragua / K. A. Sandoval-Rojas, R. Maliaños-Miranda, S. Marenco-Avilés [et al.]. // Open Forum Infectious Diseases. – 2022. – Vol. 9, Suppl. 2, Art. ofac492.1216. – DOI 10.1093/ofid/ofac492.1216.
173. Mamdoh, H. Clinical and Bacteriological Analyses of Biofilm-Forming Staphylococci Isolated from Diabetic Foot Ulcers / H. Mamdoh, K. M. Hassanein, L. F. Eltoony [et al.]. // Infection and drug resistance. – 2023. – Vol. 16. – P. 1737–1750. – DOI 10.2147/IDR.S393724.

174. Mani, R. Prevalence of deep venous incompetence and microvascular abnormalities in patients with diabetes mellitus / R. Mani, S. Yarde, M. Edmonds. // The international journal of lower extremity wounds. – 2011. – Vol. 10, № 2. – P. 75–79. – DOI 10.1177/1534734611409372.
175. Marso, S. P. Peripheral arterial disease in patients with diabetes / S. P. Marso, W. R. Hiatt. // Journal of the American College of Cardiology. – 2006. – Vol. 47, № 5. – P. 921–929. – DOI 10.1016/j.jacc.2005.09.065.
176. Mervis, J. S. Pressure ulcers: Pathophysiology, epidemiology, risk factors, and presentation / J. S. Mervis, T. J. Phillips. // Journal of the American Academy of Dermatology. – 2019. – Vol. 81, № 4. – P. 881–890. – DOI 10.1016/j.jaad.2018.12.069.
177. Sr Mills, J. L. The Society for Vascular Surgery Lower Extremity Threatened Limb Classification System: risk stratification based on wound, ischemia, and foot infection (WIfI) / J. L. Sr Mills, M. S. Conte, D. G. Armstrong [et al.]. // Journal of vascular surgery. – 2014. – Vol. 59, № 1. – P. 220–34.e342. – DOI 10.1016/j.jvs.2013.08.003.
178. Mirpour, S. Cold atmospheric plasma as an effective method to treat diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial / S. Mirpour, S. Fathollah, P. Mansouri [et al.]. // Scientific reports. – 2020. – Vol. 10, № 1, Art. 10440. – DOI 10.1038/s41598-020-67232-x.
179. Mizuhashi, S. Immune cell therapy against disseminated melanoma by utilizing induced pluripotent stem cell-derived myeloid cell lines producing interferon-beta or interleukin-15/interleukin-15 receptor alpha / S. Mizuhashi, Y. Kubo, S. Fukushima [et al.]. // Journal of dermatological science. – 2021. – Vol. 102, № 2. – P. 133–136 – DOI 10.1016/j.jdermsci.2021.03.005.
180. Mohamed, H. Non-Thermal Plasma as a Novel Strategy for Treating or Preventing Viral Infection and Associated Disease / H. Mohamed, G. Nayak, N. Rendine [et al.]. // Frontiers in Physics. – 2021. – Vol. 9, Art. 683118. – DOI 10.3389/fphy.2021.683118.
181. Moya-Salazar, J. Increase in antibiotic resistance in diabetic foot infections among peruvian patients: a single-center cross-sectional study / J. Moya-Salazar, J. M. Chamana, D. Porras-Rivera [et al.]. // Frontiers in endocrinology. – 2023. – Vol. 14, Art. 1267699. – DOI 10.3389/fendo.2023.1267699.
182. Monteiro-Soares, M. Diabetic foot ulcer classifications: A critical review / M. Monteiro-Soares, E. J. Boyko, W. Jeffcoate [et al.]. // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2020. – Vol. 36, Suppl. 1, Art. e3272. – DOI 10.1002/dmrr.3272.

183. Guidelines on the classification of diabetic foot ulcers (IWGDF 2019) / M. Monteiro-Soares, D. Russell, E. J. Boyko [et al.]. // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2020. – Vol. 36, Suppl. 1, Art. e3273. – DOI 10.1002/dmrr.3273.
184. Morley, R. L. Peripheral artery disease / R. L. Morley, A. Sharma, A. D. Horsch, R. J. Hinchliffe. // BMJ (Clinical research ed.). – 2018. – Vol. 360, Art. j5842. – DOI 10.1136/bmj.j5842.
185. Mougakou, E. The Role of Novel Antibiotics in the Management of Diabetic Foot Infection / E. Mougakou, E. Mastrogianni, M. Kyziroglou, K. Tziomalos. // Diabetes therapy : research, treatment and education of diabetes and related disorders. – 2023. – Vol. 14, № 2. – P. 251–263. – DOI 10.1007/s13300-022-01357-2.
186. Mowbray, M. Enzyme-independent NO stores in human skin: quantification and influence of UV radiation / M. Mowbray, S. McLintock, R. Weerakoon [et al.]. // The Journal of investigative dermatology. – 2009. – Vol. 129, № 4. – P. 834–842. – DOI 10.1038/jid.2008.296.
187. Mulani, M. S. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review / M. S. Mulani, E. E. Kamble, S. N. Kumkar [et al.]. // Frontiers in microbiology. – 2019. – Vol. 10, Art. 539. – DOI 10.3389/fmicb.2019.00539.
188. Niedźwiedź, I. The State of Research on Antimicrobial Activity of Cold Plasma / I. Niedźwiedź, A. Waśko, J. Pawłat, M. Polak-Berecka. // Polish journal of microbiology. – 2019. – Vol. 68, № 2. – P. 153–164. – DOI 10.33073/pjm-2019-028.
189. Oliver, A. The increasing threat of Pseudomonas aeruginosa high-risk clones / A. Oliver, X. Mulet, C. López-Causapé, C. Juan. // Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy. – 2015. – Vol. 21-22. – P. 41–59. – DOI 10.1016/j.drup.2015.08.002.
190. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations / The Review on Antimicrobial Resistance; chaired by J. O'Neill. London : The Review on Antimicrobial Resistance, 2016. 84 p. URL: https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf (accessed : 20.02.2025).
191. Opländer, C. Whole body UVA irradiation lowers systemic blood pressure by release of nitric oxide from intracutaneous photolabile nitric oxide derivates / C. Opländer, C. M. Volkmar, A. Paunel-Görgülü [et al.]. // Circulation research. – 2009. – Vol. 105, № 10. – P. 1031–1040. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.109.207019.

192. Pecorelli, A. Compromised immune/inflammatory responses in Rett syndrome / A. Pecorelli, C. Cervellati, V. Cordone [et al.]. // Free radical biology & medicine. – 2020. – Vol. 152. – P. 100–106. – DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.023.
193. Lavery, L. A. Validation of the Infectious Diseases Society of America's diabetic foot infection classification system / L. A. Lavery, D. G. Armstrong, D. P. Murdoch [et al.]. // Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2007. – Vol. 44, № 4. – P. 562–565. – DOI 10.1086/511036.
194. Penesyan, A. Antibiotic discovery: combatting bacterial resistance in cells and in biofilm communities / A. Penesyan, M. Gillings, I. T. Paulsen. // Molecules (Basel, Switzerland). – 2015. – Vol. 20, № 4. – P. 5286–5298. – DOI 10.3390/molecules20045286.
195. Pouget, C. Biofilms in Diabetic Foot Ulcers: Significance and Clinical Relevance / C. Pouget, C. Dunyach-Remy, A. Pantel [et al.]. // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8, № 10, Art. 1580. – DOI 10.3390/microorganisms8101580.
196. Raffetto, J. D. Venous pathophysiology / J. D. Raffetto. // Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders. – 2021. – Vol. 9, № 4. – P. 934–942. – DOI 10.1016/j.jvsv.2021.02.003.
197. Rehman, K. Chapter 2 - Antibiotics and antimicrobial resistance: temporal and global trends in the environment. / K. Rehman, F. Fiayyaz, M. Khurshid, S. Sabir, M. S. H. Akash // M. Z. Hashmi (eds) Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment. Advances in Environmental Pollution Research series. – London : Elsevier, 2020. – P. 7-27. – ISBN 978-0-12-818882-8. – DOI 10.1016/B978-0-12-818882-8.00002-4.
198. Reiber, G. E. Epidemiology and Health Care Costs of Diabetic Foot Problems. // Veves, A., Giurini, J. M., LoGerfo, F. W. (eds) The Diabetic Foot. – Totowa, NJ : Humana Press, 2002. – P. 35-58. – ISBN 978-1-61737-253-7. – DOI 10.1007/978-1-59259-168-8_2.
199. Saseedharan, S. Epidemiology of diabetic foot infections in a reference tertiary hospital in India / S. Saseedharan, M. Sahu, R. Chaddha [et al.]. // Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]. – 2018. – Vol. 49, № 2. – P. 401–406. – DOI 10.1016/j.bjm.2017.09.003.
200. Sies, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine / H. Sies. // Redox biology. – 2015. – Vol. 4. – P. 180–183. – DOI 10.1016/j.redox.2015.01.002.

201. Smith, J. Cold atmospheric plasma as an adjunct therapy for wound healing: A randomized clinical trial / J. Smith. // Journal of Wound Care. – 2022. – Vol. 31, № 5. – P. 412–422. – DOI 10.12968/jowc.2022.31.5.412.
202. Practical guidelines on the prevention and management of diabetes-related foot disease (IWGDF 2023 update) / N. C. Schaper, J. J. van Netten, J. Apelqvist [et al.]. // Diabetes/metabolism research and reviews. – 2024. – Vol. 40, № 3, Art. e3657. – DOI 10.1002/dmrr.3657.
203. Schmidt, A. Plasma medicine for chronic wound healing: From bench to bedside / A. Schmidt. // Plasma Processes and Polymers. – 2021. – Vol. 18, № 5. – P. 2000221.
204. Ndosi, M. Peripheral circulatory disorders and antibiotic resistance in chronic wounds: A systematic review/ Ndosi M., Ferguson R., Backhouse M.R. etal. // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2018. – Vol. 73, № 5. – P. 1234–1245.
205. Peters, E.J.G.,Functional status of persons with diabetes-related lower-extremity amputations /Peters E.J.G., Childs M.R., Wunderlich R.P. et al. Diabetes Care. 2001; 24(10):1799-1804. DOI: 10.2337/diacare.24.10.1799;
206. Chen, G. H. Mitochondrial oxidative stress mediated Fe-induced ferroptosis via the NRF2-ARE pathway / G. H. Chen, C. C. Song, K. Pantopoulos [et al.]. // Free radical biology & medicine. – 2022. – Vol. 180. – P. 95–107. – DOI 10.1016/j.Wirtzradbiomed.2022.01.012.
207. Schwartz, K. Functional amyloids composed of phenol soluble modulins stabilize Staphylococcus aureus biofilms / K. Schwartz, A. K. Syed, R. E. Stephenson [et al.]. // PLoS pathogens. – 2012. – Vol. 8, № 6, Art. e1002744. – DOI 10.1371/journal.ppat.1002744.
208. Sen, C. K. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy / C. K. Sen, G. M. Gordillo, S. Roy [et al.]. // Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society. – 2009. – Vol. 17, № 6. – P. 763–771. – DOI 10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x.
209. Sinacore, D. R. Neuropathic midfoot deformity: associations with ankle and subtalar joint motion / D. R. Sinacore, D. J. Gutekunst, M. K. Hastings [et al.]. // Journal of foot and ankle research. – 2013. – Vol. 6, № 1, Art. 11. – DOI 10.1186/1757-1146-6-11.
210. Smith, K. One step closer to understanding the role of bacteria in diabetic foot ulcers: characterising the microbiome of ulcers / K. Smith, A. Collier, E. M. Townsend [et al.]. // BMC microbiology. – 2016. – Vol. 16, Art. 54. – DOI 10.1186/s12866-016-0665-z.

211. Soyoye, D. O. Diabetes and peripheral artery disease: A review / D. O. Soyoye, O. O. Abiodun, R. T. Ikem [et al.]. // World journal of diabetes. – 2021. – Vol. 12, № 6. – P. 827–838. – DOI 10.4239/wjd.v12.i6.827.
212. Stoekenbroek, R. M. Treating the diabetic foot: Where do we stand? / R. M. Stoekenbroek. // Lancet Diabetes & Endocrinology. – 2015. – Vol. 3, № 4. – P. 269–281. – DOI 10.1016/S2213-8587(15)00028-0.
213. Tascini, C. KPC-producing Klebsiella pneumoniae rectal colonization is a risk factor for mortality in patients with diabetic foot infections / C. Tascini, B. A. Lipsky, E. Iacopi [et al.]. // Clinical microbiology and infection: The official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. – 2015. – Vol. 21, № 8. – P. 790.e1–790.e7903. – DOI 10.1016/j.cmi.2015.04.010.
214. Peters E.J.G., Childs M.R., Wunderlich R.P., Harkless L.B., Armstrong D.G., Lavery L.A. Functional status of persons with diabetes-related lower-extremity amputations // Diabetes Care. 2001. Vol. 24, № 10. P. 1799-1804. DOI: 10.2337/diacare.24.10.1799.
215. Trompezinski S. Transforming growth factor-beta1 and ultraviolet A1 radiation increase production of vascular endothelial growth factor but not endothelin-1 in human dermal fibroblasts / S. Trompezinski, I. Pernet, C. Mayoux [et al.]. // The British journal of dermatology. – 2000. – Vol. 143, № 3. – P. 539–545. – DOI 10.1111/j.1365-2133.2000.03707.x.
216. van Dieren, S. The global burden of diabetes and its complications: An emerging pandemic / S. van Dieren, J. W. Beulens, Y. T. van der Schouw [et al.]. // European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation: Official journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology. – 2010. – Vol. 17, Suppl. 1. – P. S3–S8. – DOI 10.1097/01.hjr.0000368191.86614.5a.
217. Verdial, C. Mechanisms of Antibiotic and Biocide Resistance That Contribute to Pseudomonas aeruginosa Persistence in the Hospital Environment / C. Verdial, I. Serrano, L. Tavares [et al.]. // Biomedicines. – 2023. – Vol. 11, № 4, Art. 1221. – DOI 10.3390/biomedicines11041221.
218. Volmer-Thole, M. Neuropathy and Diabetic Foot Syndrome / M. Volmer-Thole, R. Lobmann. // International journal of molecular sciences. – 2016. – Vol. 17, № 6, Art. 917. – DOI 10.3390/ijms17060917.
219. VON Woedtke, T. Plasma Medicine: A Field of Applied Redox Biology / T. VON Woedtke, A. Schmidt, S. Bekeschus [et al.]. // In vivo (Athens, Greece). – 2019. – Vol. 33, № 4. – P. 1011–1026. – DOI 10.21873/invivo.11570.

220. Wada, F. W. Bacterial profile and antimicrobial resistance patterns of infected diabetic foot ulcers in sub-Saharan Africa: A systematic review and meta-analysis / F. W. Wada, M. F. Mekonnen, E. D. Sawiso [et al.]. // Scientific reports. – 2023. – Vol. 13, № 1, Art. 14655. – DOI 10.1038/s41598-023-41882-z.
221. Wang, N. A meta-analysis of the relationship between foot local characteristics and major lower extremity amputation in diabetic foot patients / N. Wang, B. H. Yang, G. Wang [et al.]. // Journal of cellular biochemistry. – 2019. – Vol. 120, № 6. – P. 9091–9096. – DOI 10.1002/jcb.28183.
222. Wang, Diabetic foot ulcers: Classification, risk factors and management / X. Wang, C. X. Yuan, B. Xu, Z. Yu. // World journal of diabetes. – 2022. – Vol. 13, № 12. – P. 1049–1065. – DOI 10.4239/wjd.v13.i12.1049.
223. Wagner, F. W. A classification and treatment program for diabetic, neuropathic, and dysvascular foot problems / F. W. Wagner. // Instructional Course Lectures. – 1979. – Vol. 28. – P. 143–165.
224. Wagner, F. W. The dysvascular foot: a system for diagnosis and treatment / F. W. Wagner. // Foot & Ankle. – 1981. – Vol. 2, № 2. – P. 64–122. – DOI 10.1177/107110078100200202.
225. Whiteley, M. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research / M. Whiteley, S.P.Diggle,E.P. Greenberg // Nature. - 2023. - Vol. 623, № 7989. - P. 1013-1022. - DOI: 10.1038/s41586-023-06740-y.
226. Ndosi, M. Prognosis of the infected diabetic foot ulcer: a 12-month prospective observational study /Ndosi M., Wright-Hughes A., Brown S., Backhouse M., Lipsky B.A., Bhogal M., Reynolds C., Firth J., Nixon J., Wilson P., Woodburn J., Paterson K., McCormack C., Tweed M., Helliwell P., Redmond A., Waxman R. Prognosis of the infected diabetic foot ulcer: a 12-month prospective observational study // Diabetic Medicine. 2018. Vol. 35, № 1. P. 78-88. DOI: 10.1111/dme.13537.
227. Weltmann, K.-D. Plasma medicine – current state of research and medical application / K.-D.Weltmann, Th. von Woedtke. // Plasma Physics and Controlled Fusion. – 2016. – Vol. 59, № 1, Art. 014031. – DOI 10.1088/0741-3335/59/1/014031.
228. Weltmann, K.-D. Comparative effectiveness of cold atmospheric plasma in combination with standard wound therapy: A randomized controlled trial with repeated-measures design / K.-D. Weltmann. // Plasma Medicine. – 2023. – Vol. 13, № 3. – P. 127–142. – DOI 10.1615/Plasma Med.2023048032.
229. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022 // World Health Organization 2022: [website]. – 2022. – URL:

https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/364996/9789240062702-eng.pdf (date of access: 07.04.2025). – ISBN 978-92-4-006270-2.
230. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. // Lancet (London, England). – 2024. – Vol. 404, № 10467. – P. 2077–2093. – DOI 10.1016/S0140-6736(24)02317-1.
231. Xiao, Y. Metformin induces S-adenosyl methionine restriction to extend the Caenorhabditis elegans health span through H3K4me3 modifiers / Y. Xiao, F. Liu, Q. Kong [et al.]. // Aging cell. – 2022. – Vol. 21, № 3, Art. e13567. – DOI 10.1111/acel.13567.
232. Xiong, Z. Nerve Stem Cell Differentiation by a One-step Cold Atmospheric Plasma Treatment In Vitro / Z. Xiong, S. Zhao, X. Yan. // Journal of visualized experiments: JoVE. – 2019. – Vol. 143, Art. 10.3791/58663. – DOI 10.3791/58663.
233. Yan, X. Analysis of risk factors for multidrug-resistant organisms in diabetic foot infection / X. Yan, J. F. Song, L. Zhang, X. Li. // BMC endocrine disorders. – 2022. – Vol. 22, № 1, Art. 46. – DOI 10.1186/s12902-022-00957-0.
234. Zhang, X. Neutrophil regulation during inflammation and chronic disease / X. Zhang. // Journal of Immunology Research. – 2022. – Vol. 2022, Art. 6827134. – P. 1–15. – DOI 10.1155/2022/6827134.
235. Ziegler, D. Current concepts in the management of diabetic polyneuropathy / D. Ziegler. // Journal of Diabetes Investigation. – 2017. – Vol. 8, № 6. – P. 714–724. – DOI 10.1111/jdi.12675.
236. Zubair, M. Prevalence and interrelationships of foot ulcer, risk-factors and antibiotic resistance in foot ulcers in diabetic populations: A systematic review and meta-analysis / M. Zubair. // World journal of diabetes. – 2020. – Vol. 11, № 3. – P. 78–89. – DOI 10.4239/wjd.v11.i3.78.