

Иммунотерапия при сахарном диабете 2 типа, осложненном синдромом диабетической стопы, комплексом природных цитокинов и противомикробных пептидов

Л.В.КОВАЛЬЧУК, В.В.ПОТЕМКИН, Т.Н.БАЛДИНА, П.Б.БАРБИН

Immunotherapy at the diabetes 2 types, complicated by the syndrome of diabetic foot, by the complex of natural cytokines and antimicrobial peptides

L.V.KOVALCHUK, V.V.POTEMKIN, T.N.BALDINA, P.B.BARBIN

Российский государственный медицинский университет им. Н.И.Пирогова
Институт хирургии им. А.В.Вишневского

Анализируются результаты обследования и лечения 75 больных с СДС. Больные разделены на 2 исследуемые группы в зависимости от характера заболевания и схем лечения. Первую группу составили 25 (33,3%) больных, которым проводилось лечение по традиционной схеме (антибактериальная терапия, дезагреганты, ангиопротекторы, антиоксиданты, коррекция уровня гипергликемии, хирургическое лечение, перевязки с мазью Левомеколь). Во вторую группу включены 50 (66,7%) пациентов с гнойно-некротическими поражениями стопы, в лечении которых, наряду с общепринятыми методами, использовалась иммунокоррекция препаратом «Суперлимф». Контрольная группа из 25 человек представлена здоровыми людьми. Установлено, что применение иммунотерапии комплексом природных цитокинов и противомикробных пептидов при сахарном диабете 2 типа, осложненным синдромом диабетической стопы, патогенетически обосновано. Отмечается снижение активности процессов перекисного окисления липидов, стабилизация антиоксидантной защиты крови, снижение эндогенной интоксикации, нормализация фагоцитарного звена иммунитета, уровня циркулирующих иммуноглобулинов крови. У больных с синдромом диабетической стопы иммунокоррекция препаратом «Суперлимф» является методом выбора иммуномоделирующей терапии.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, цитокины, иммунокоррекция, суперлимф

In research results of inspection and treatment of 75 patients with DFS are analysed. Patients are divided into 2 investigated groups depending on character of disease and treatment schemes. The first group have made 25 (33,3 %) patients by whom treatment under the traditional scheme (antibacterial therapy, disaggregants, angioprotectors, antioxidants, correction level of hyperglycemia, surgical treatment, bandagings with ointment of Levomekol was spent). In the second group are included 50 (66,7 %) patients with purulent-necrotic defeats of foot, in which treatment, along with the standard methods, it was used immunecorrection by a preparation "Superlimf". The control group of 25 persons is presented by healthy people. It is established that application immunotherapy by complex natural cytokines and antimicrobial peptides at a diabetes 2 types, complicated by the diabetic foot syndrome, pathogenetic is proved. Observed decrease of activity of processes lipid peroxidation was, stabilization in antioxidant blood protection, decrease endogenous intoxication, normalization of phagocytic a component of immune system, level of circulating immunoglobulin in blood. At patients about a syndrome of diabetic foot immunecorrection a preparation "Superlimf" is a choice method immunomodelling therapies.

Key words: a syndrome of diabetic foot, cytokines, immunocorrection, superlimf

По медико-социальной значимости проблема сахарного диабета (СД) занимает место непосредственно после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Широкая распространенность СД, тенденция к увеличению его частоты, отмечаемая во всех странах мира, хроническое течение, частая инвалидизация больных требуют дальнейшей углубленной разработки различных его аспектов [2, 3].

По данным Минздрава России в нашей стране производится более 11 тысяч ампутаций в год. В большинстве случаев такие операции выполняются лицам трудоспособного возраста (40-60 лет). Ампутации нижних конечностей приводят к тяжелой инвалидизации больных, высокой частоте смертности, достигающей 15-28%. Прогноз еще более удручает, если учесть, что почти у каждого второго больного после ампута-

ции через 2-3 года приходится ампутировать и другую конечность.

Многолетний опыт хирургов демонстрирует несостоятельность традиционных методов лечения гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы (СДС) [1, 2, 6]. Это обусловлено сложным, многосторонним патогенезом СДС, когда без направленного воздействия на ведущие звенья его патогенеза невозможно добиться излечения больного [4, 5, 7-12]. Следовательно, раскрытие ранее неизвестных, уточнение и детализация известных сторон патогенеза должно обеспечить создание рациональной патогенетической программы обследования и лечения СДС.

Эффективность консервативной терапии больных с тяжелыми формами СДС, включающей антибактериальную терапию, коррекцию гликемии, введение

дезагрегантов, ангиопротекторов, антиоксидантов, проведение физиотерапии (УФО, УВЧ, ГБО и др.) не всегда дает желаемые результаты. В последние годы вызывает интерес возможность влияния на иммунную систему у больных с СДС.

Указанное выше определило цель исследования: оценить клиническую эффективность препарата «Суперлимф» в комплексном лечении больных с СДС.

Материалы и методы

Клинический материал, проанализированный в работе, включает данные о 75 больных с СД 2 типа, осложненным СДС.

Больные были разделены на 2 группы в зависимости от характера заболевания и схем лечения.

Первую группу составили 25 (33,3%) больных, которым проводилось лечение по традиционной схеме (антибактериальная терапия, дезагреганты, ангиопротекторы, антиоксиданты, коррекция уровня гипергликемии, хирургическое лечение, перевязки с мазью «Левомеколь»).

Во 2-ю группу вошли 50 (66,7%) пациентов с гнойно-некротическими поражениями стопы, в лечении которых, наряду с общепринятыми методами, использовалась иммунокоррекция препаратом «Суперлимф». Препарат вводился ректально, в виде свечей, содержащих 25 ЕД активной субстанции, ежедневно, в течение 10 дней. Основной механизм действия «Суперлимфа» связан с активацией клеток фагоцитарного ряда и фибробластов, усилением взаимодействия с этими клеточными элементами. Препарат стимулирует фагоцитоз макрофагов и нейтрофилов, выработку ими активных форм кислорода и азота, продукцию клетками собственных цитокинов, регулирует их миграцию, активирует противоопухолевую цитотоксичность и способствует гибели внутриклеточных паразитов. В то же время, «Суперлимф» регулирует функциональную активность фибробластов, синтез ими коллагена и гликозаминогликанов. Кроме того, под влиянием экзогенных цитокинов происходит изменение собственного цитокинового фона тканей, что индуцирует приток в очаг в основном мононуклеарных фагоцитов, в связи с чем воспалительная реакция приобретает локальный и менее выраженный характер. Усиление функциональной активности макрофагов способствует более быстрой резорбции продуктов распада и усилению репаративных процессов с полным восстановлением дефекта без образования грубых рубцов. «Суперлимф» снижает развитие воспалительных реакций, стимулирует регенерацию, предупреждает образование грубых рубцов, оказывает прямое антибактериальное и противовирусное действие, обладает антиоксидантной активностью.

По полу, возрасту, формам поражения стопы, клиническому течению, сопутствующим заболеваниям и характеру оперативных вмешательств группы пациентов были сопоставимы. Исследуемые больные

были в возрасте от 30 до 69 лет. Средний возраст составил $56,3 \pm 9,4$ лет. Распределение больных по полу и возрасту представлено в таблицах 1 и 2.

Во всех группах преобладали женщины, что, по видимому, объясняется высокой лабильностью у них эндокринной системы.

Клинические формы СДС представлены в таблице 3. Отмечается преобладание больных с нейропатической и нейроишемической формами СДС.

Все пациенты имели тяжелую форму СД. Распределение больных по характеру осложнений СДС представлено в таблице 4.

Таблица 1

Распределение больных по полу

Пол	1 группа	2 группа	Всего
Мужской	10	20	30
Женский	15	30	45
Итого	25	50	75

Таблица 2

Распределение больных по возрасту

Возраст (лет)	1 группа	2 группа	Всего
30-39	1	3	4
40-49	4	9	13
50-59	9	15	24
60 и более	11	23	34
Итого	25	50	75

Таблица 3

Распределение больных по формам синдрома диабетической стопы

Клинические формы СДС	1 группа	2 группа	Всего
Нейроишемическая	14	26	40
Нейропатическая	10	22	32
Ишемическая	1	2	3
Итого	25	50	75

Таблица 4

Распределение больных по характеру осложнений синдрома диабетической стопы

Формы поражения конечностей	1 группа	2 группа	Всего
Поверхностные трофические изменения	9	15	24 (32,0%)
Глубокие язвы и некрозы	3	7	10 (13,3%)
Гангрена пальцев	1	3	4 (5,3%)
Флегмоны стопы	4	9	13 (17,3%)
Гнойная остеоартропатия	3	6	9 (12,0%)
Смешанные формы	5	10	15 (20,0%)
Итого	25	50	75

Обследование пациентов проводили по общепринятой методике:

- анализировали общий и диабетический анамнез;
- проводили общее и специальное обследование;
- оценка локального статуса: осмотр и пальпация нижних конечностей, мануальное определение пульсации магистральных сосудов, исследование нарушений тактильной, болевой и вибрационной чувствительности, определение лодыжечно-плечевого индекса, исследование сухожильных рефлексов (коленного, ахиллова);
- токсичность крови характеризовали при помощи лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), теста блокады дифференцировки ретикулоцитов;
- оценка иммунологических показателей: фагоцитарная активность нейтрофилов по фагоцитарному показателю и фагоцитарному числу, резервная возможность фагоцитарной реакции определялась по отношению показателей фагоцита; по оценке активности С3-рецепторов нейтрофилов; уровень содержания сывороточных IgA, IgM, IgG определялся методом радиальной иммунодиффузии по Манчини; определение содержания ЦИК проводили методом преципитации;
- ФНО- α с использованием тест – системы Pro Con TNF- α ;
- для изучения перекисного окисления липидов (ПОЛ) и состояния антиоксидантной защиты (АОЗ) были проведены биофизические и биохимические исследования.

1-я группа включала биофизические методы: регистрацию хемилюминисценции гемоглобина, индуцированной перекисью водорода (ХЛГПВ), и хемилюминисцентное зондирование эритроцитов (ХЛЗЭ).

2-я группа включала биохимические методы исследования продуктов ПОЛ: первичные продукты ПОЛ – диеновые конъюгаты (ДК), вторичные – ТБК-активные продукты. В эту группу вошли биохимические методы исследования АОЗ, о которой судили по активности основного плазменного антиоксиданта – церулоплазмينا (ЦП), утилизирующего супероксиданион; супероксиддисмутаза (СОД), дисмутирующей супероксиданион в эритроцитах, глутатионредуктазы (ГР), катализирующей восстановление окисленного глутатиона; каталазы (КТ), разлагающей перекись водорода, пероксидазы (ПР), способствующей инактивации липоперекисей. О состоянии биомембран эритроцитов и их антиокислительной активности судили по устойчивости эритроцитов к перекисному гемолизу (ПГЭ). Кроме того, определяли уровень средних молекул, как критерий эндогенной интоксикации организма.

Обработка полученных результатов проводилась на основании характера информации об исследовании функционального состояния пациента. При этом использовались: вариационная статистика, факторный анализ, расчет точности, чувствительности и специ-

фичности. Для повышения достоверности и возможности компьютерной обработки результатов были разработаны формализованные протоколы исследований. При этом информация о результатах исследования накапливалась в базе данных компьютера. Полученные в процессе исследования данные обработаны и сведены в таблицы. Для получения обобщенной характеристики изучаемой величины у всех больных данной группы вычисляли среднее арифметическое значение (M) и его ошибку (m).

Расчеты этих величин проводились по общеизвестным формулам:

$M = (M_1 + M_2 + \dots + M_n) / n$, где M – среднее арифметическое, M_1, M_2 – значение каждого наблюдения, n – количество наблюдений.

Ошибку определяли по формуле: $m = \delta / n - 1$, где m – абсолютная ошибка среднего арифметического, δ – среднее квадратичное отклонение.

В ряде случаев необходимо было выяснить, есть ли различие по изучаемому признаку между отдельными группами больных. С этой целью определяли достоверность различия между средними по $t\phi$ – критерию Стьюдента.

$$t\phi = (M_1 - M_2) / \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$$

Полученное фактическое значение ($t\phi$) сравнили со стандартными значениями; ($t\phi_{cr}$) для разных степеней вероятности.

Дополнительную статистическую обработку количественных результатов проводили с использованием программы SPSS/PC на компьютере Pentium 400.

Результаты и их обсуждение

У 25 (33,3%) больных 1-й исследуемой группы, которым проводилось лечение по традиционной схеме отмечена нормализация перекисных процессов. Уровень диеновых конъюгатов в плазме крови снизился по сравнению с показателями до лечения в 2,6 раза ($p < 0,05$), а содержание ТБК-активных продуктов достигло значения контроля. Устойчивость эритроцитов к перекисному гемолизу снизилась в 2,3 раза ($p < 0,001$).

Динамика показателей глутатионредуктазы в эритроцитах показала достоверное увеличение ее в 2,4 раза, а уровень супероксиддисмутазы уменьшился в 1,5 раза и достиг контроля. В плазме крови отмечено увеличение в 1,9 раза ($p < 0,05$) активности церулоплазмينا. Противоположная картина наблюдалась при изучении динамики пероксидазы и каталазы. Так, выявлено снижение активности пероксидазы по сравнению с показателями до лечения в 1,5 раза, а активность же каталазы практически не менялась. Уровень средних молекул в плазме крови у больных 1-й группы уменьшился в 3,2 раза ($p < 0,001$).

Таким образом, применение традиционной терапии у больных СДС способствует торможению образования и накопления продуктов ПОЛ и нормализации некоторых параметров системы АОЗ и снижению степени интоксикации организма.

Таблица 5

Анализ показателей эндогенной интоксикации у больных 2-й исследуемой группы

Показатели токсичности	До лечения (n=50)	После лечения (n=50)	Контроль
Фактор дифференцировки ретикулоцитов (%)	13,9±0,4*	5,9±0,6*	3,6±0,4
Лейкоцитарный индекс интоксикации	4,9±0,6*	2,1±0,8	1,1±0,1

Примечание: *p<0,05 по сравнению с контрольными показателями.

Таблица 6

Анализ показателей иммунного статуса у больных 2-й исследуемой группы

Исследуемые параметры	До лечения (n=50)	После лечения (n=50)	Контроль	p
Ig A	2,4±0,81	3,0±0,72	2,46±0,08	>0,05
Ig M	1,68±1,11	1,78±0,44	1,47±0,05	>0,05
Ig G	23,5±1,238*	18,5±0,87*	10,2±0,38	>0,05
Фагоцитарная активность	49,2±3,36*	68,4±4,86	72,4±1,02	<0,05
Фагоцитарное число	2,0±0,18*	4,1±0,18	4,4±0,06	<0,05
НСЗ	14,6±1,46*	19,5±1,32	20,5±1,04	<0,05
ЦИК	489±25*	446±30*	210±26	>0,05

Примечание: *p<0,05 по сравнению с контрольными показателями.

Во 2-й исследуемой группе на фоне терапии отмечено снижение уровня диеновых конъюгатов в 2,4 раза (p<0,001), а ТБК-активных продуктов в 1,4 раза (p<0,01) по сравнению с показателями до лечения. Перекисный гемолиз эритроцитов снизился в 2 раза и достиг значений нормы (p<0,05). В плазме крови активность церулоплазмينا и каталазы достоверно возросла соответственно в 1,5 и 1,4 раза, хотя активность пероксидазы снизилась в 1,4 раза (p<0,05). В то же время отмечалось достоверное снижение в 2,6 раза уровня средних молекул в плазме крови.

Таким образом, применение «Суперлимфа» в комплексном лечении СДС приводит к торможению процессов липопероксидации и снижению степени интоксикации.

Анализ полученных результатов исследования позволяет сделать заключение о том, что комплексное лечение больных с СДС, включающее препарат «Суперлимф» способствует достоверному снижению продуктов ПОЛ (первичных и промежуточных), нормализации некоторых показателей АОЗ (перекисного гемолиза эритроцитов, глутатионредуктазы, супероксиддисмутаза, церулоплазмينا). Следует отметить, что нормализация устойчивости эритроцитов к перекисному гемолизу свидетельствует о стабилизации мембран эритроцитов.

Увеличение активности каталазы в плазме крови является адаптивной реакцией организма, направленной на защиту от повреждающего действия диеновых конъюгатов, уровень которых на фоне проводимой терапии снижается.

Таким образом, полученные нами результаты доказывают перспективность и показанность применения «Суперлимфа» для коррекции нарушений процессов ПОЛ-АОЗ в комплексном лечении больных СД, осложненном СДС, что способствует улучшению результатов лечения.

Синдром эндогенной интоксикации в различной степени был выражен у всех больных. После проведенной иммунокоррекции препаратом «Суперлимф» наблюдалось достоверное снижение показателей ЛИИ и фактора дифференцировки ретикулоцитов, которое составило, соответственно, 2,1±0,8 (p<0,01) и 5,9±0,6% (p<0,05). Динамика показателей эндотоксичности крови больных отражена в таблице 5.

Данное обстоятельство позволяет сделать заключение о выраженной детоксикационной способности «Суперлимфа» в данной исследуемой группе.

Исследование параметров иммунного статуса провели у всех 50 пациентов (табл. 6).

Изменение и соотношения основных классов (Ig A, M, G) обнаружено у 30 (60%) больных. Соотношение иммуноглобулинов существенно не менялось, при этом сохранялось высокое содержание Ig G, составившее 18,5±0,87 мг/мл (p<0,05).

Нарушения в фагоцитарном звене иммунитета проявлялись снижением фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа, соответственно, на 32,5% и 50,5%. Наряду с этим, выявлено снижение адгезивной способности нейтрофильных фагоцитов на 28% (p<0,05).

Самый существенный позитивный сдвиг на фоне терапии препаратом «Суперлимф» был отмечен при оценке показателей фагоцитарного звена иммунитета. Фагоцитарный индекс и фагоцитарное число увеличились, соответственно, на 32,4% (p<0,05) и 46,3% (p<0,01). Вместе с тем, адгезивная способность нейтрофилов (НСЗ) возросла до 19,5±1,32 (p<0,05) и, тем самым, достоверно отличалась от исходного показателя.

Выводы

1. Проведенное исследование показало, что включение иммунокоррекции с использованием препарата «Суперлимф» в комплекс мероприятий у больных с

гноино-некротическими осложнениями СДС ведет к снижению активности процессов перекисного окисления липидов, стабилизации антиоксидантной защиты крови, снижению эндогенной интоксикации, нормализации фагоцитарного звена иммунитета, уровня циркулирующих иммуноглобулинов крови.

Список литературы

1. Горшков И.П., Золоедов В.И., Вольнкина А.П. Применение актовегина в лечении диабетической полинейропатии и профилактике синдрома диабетической стопы у больных хирургического профиля с сахарным диабетом 2 типа и артериальной гипертензией. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2010; 3: 3: 260-264.
2. Гостищев В.К., Хохлов А.М., Афанасьев А.Н. и др. Комплексная диагностика и лечение диабетических остеоартропатий. 1 Белорусский международный конгресс хирургов. Витебск 1996: 379-380.
3. Григорян А.В., Оганесян С.С. Гнойные заболевания и гангрены конечностей при сахарном диабете. Ереван 1979; 126.
4. Гриневич А.С., Андреев И.В., Мартынов А.И. Структурно-функциональные особенности углеводов иммуноглобулинов в норме и патологии. Иммунология 1994; 3: 10-15.
5. Дедов И.И., Анциферов М.Б., Токмакова А.Ю. Синдром диабетической стопы. Клиническая фармакология и терапия 1993; 3: 58-62.
6. Дедов И.И., Абугова И.А., Шахмалова М.Ш., Шишко П.И. Иммунотерапия при инсулинозависимом сахарном диабете. Пробл. эндокринологии. 1995; 4: 43-48.
7. Дедов И.И., Чугунова Л.А., Смирнова О.М. и др. Особенности клеточного иммунитета у больных с впервые выявленным инсулинозависимым сахарным диабетом. Пробл. эндокринологии. 1994; 1: 17-20.
8. Ефимов А.С., Науменко В.Г. Перекисное окисление липидов в эритроцитах больных сахарным диабетом с диабетическими ангиопатиями. Пробл. эндокринологии 1985; 1: 6-9.
9. King, G. L., and Brownlee, M. The cellular and molecular mechanisms of diabetic complications. Endocrinol. Metab. Clin. North. Am. 1996; 25: 255-270.
10. Tanaka, S., Seino, H., Satoh, J., Fujii, N., Rikiishi, H., Zhu, X. P., Takahashi, K., Sagara, M., Nobunaga, T., and Toyota, T. Increased in vivo production of tumor necrosis factor after development of diabetes in nontreated, long-term diabetic BB rats. Clin. Immunol. Immunopathol. 1992; 62: 258-263.
11. Katsuki, A., Sumida, Y., Murashima, S., Murata, K., Takarada, Y., Ito, K., Fujii, M., Tsuchihashi, K., Goto, H., Nakatani, K., and Yano, Y. Serum levels of tumor necrosis factor alpha are increased in obese patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1998; 83: 859-862.
12. Morohoshi, M., Fujisawa, K., Uchimura, I., and Numano, F. Glucose-dependent interleukin 6 and tumor necrosis factor production by human peripheral blood monocytes in vitro. Diabetes. 1996; 45: 954-959.

Поступила 02.06.2010 г.

Информация об авторах

1. Ковальчук Леонид Васильевич – д.м.н., профессор, академик РАЕН, заведующий кафедрой иммунологии Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова; e-mail: bruda_elf@mail.ru
2. Потемкин Владимир Васильевич – к.м.н., профессор, заведующий кафедрой эндокринологии Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова, заслуженный врач Российской Федерации, заслуженный работник высшей школы России; e-mail: bruda_elf@mail.ru
3. Балдина Татьяна Николаевна – аспирант кафедры эндокринологии Российского государственного медицинского университета им. Н.И.Пирогова, врач-эндокринолог отделения гнойной хирургии; e-mail: bruda_elf@mail.ru
4. Барбин Павел Борисович – аспирант отделения абдоминальной хирургии №1 Института хирургии им. А.В.Вишневского; e-mail: bruda_elf@mail.ru