

На правах рукописи

СОМОВ Никита Олегович

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ
ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ ВЕНОЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

3.1.9 Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

**Диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Болдин Борис Валентинович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Варданян Аршак Варданович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургии, профессор кафедры.

доктор медицинских наук, профессор

Шиманко Александр Ильич

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургических болезней и клинической ангиологии, профессор кафедры.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___»_____ 2023 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.058.08 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (117997, Москва, ул. Островитянова, д.1) и на сайте <http://rsmu.ru/>

Автореферат разослан «___»_____ 2023 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Хашукоева Асият Зульчиловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В России не менее 5 млн. людей страдают венозными трофическими язвами (ВТЯ). По данным многочисленных клинических исследований в более чем 10% случаев трофические язвы приводят к стойкой утрате трудоспособности лиц как пожилого, так и трудоспособного возраста. [Богачев В.Ю., 2003; Круглова Е.С., 2014; Туркин П.Ю., 2018; Weller C.D. et al., 2020].

Невзирая на значительный прогресс в диагностике и лечении трофических язв, лишь только половина из них заживает в течение 4-х месяцев с начала лечения, 20% остаются открытыми на протяжении 2-х лет, а в 8% случаев ВТЯ не заживают и при 5-летнем лечении. Даже при закрытии язвенного дефекта в последующем частота рецидивов сохраняется на уровне 6-15% [Vishwanath V. et al., 2014; Serra R. et al., 2018].

Несмотря на колоссальную работу по изучению патогенеза трофических язв, а также большое количество симптоматических и патогенетических методов лечения (в том числе хирургических), число пациентов с данной патологией не уменьшается, а существующие в настоящее время методики лечения ВТЯ имеют ограниченные возможности, зачастую не оказывая прямого влияния на регуляцию воспаления и течение регенераторных процессов в язве. Остается нерешенным вопрос развития резистентности при антибактериальной терапии ВТЯ, что в свою очередь является одной из причин их рецидивирующего течения. Поэтому сохраняется не только пристальный интерес к совершенствованию существующих, но и к поиску новых методов лечения венозных трофических язв [Богданец Л.И., 2013; Каторкин С.Е., 2021; Bonkemeyer Millan S., 2019].

Относительно новым методом лечения трофических язв является фотодинамическая терапия (ФДТ), основанная на применении фотосенсибилизаторов (ФС) в комплексе с низкоинтенсивным лазерным излучением, длина волны которого соответствует пику поглощения ФС. Фотодинамическая терапия обладает бактерицидным, спазмолитическим, обезболивающим, противовоспалительным и биостимулирующим эффектами [Сергеев Н.А., 2013; Каторкин С.Е., 2015; Странадко Е.Ф., 2018].

Одной из разновидностей ФДТ является антибактериальная ФДТ (АДФТ), которая предполагает более активную пенетрацию ФС в бактериальную клетку за счет его хелатной формы, и, как следствие более, активный антибактериальный эффект [Тиганова И.Г., 2017; Ильина Т.С., 2021; Torabi S. et al., 2020].

На фоне ускоренного образования антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, возрастает актуальность антимикробной фотодинамической терапии (ФДТ). АДФТ обладает выраженной бактерицидной активностью и противовоспалительным действием. АДФТ способствует активации иммунного ответа, а также предупреждает дистрофические и склеротические процессы [Sun Y. Et al., 2019]. Кроме того, в сравнении с антибиотикотерапией, противомикробное действие АДФТ не приводит к развитию резистентности микроорганизмов к лечению [Sahu K. et al., 2015].

Вместе с тем, до настоящего момента не проводились экспериментальные исследования на животной модели по оценке эффективности ФДТ и АДФТ в

лечении ВТЯ. Существующий пробел в знаниях не позволяет полноценно оценить влияние ФДТ и АФДТ на морфологические изменения в тканях в области трофической язвы, объективно описать сравнительную эффективность данных методик. Вышеописанные факторы определили научную новизну данного исследования и обусловили формулировку его основной цели. Оценка патоморфологических изменений в тканях с моделированием венозной трофической язвы позволили обосновать применение метода ФДТ с использованием разных типов ФС для лечения ВТЯ. Подобное исследование создаст основу и определит перспективы использования ФДТ и АФДТ в лечении ВТЯ в клинике.

Степень разработанности темы исследования

Анализ данных мировой литературы доказывает обоснованность использования ФДТ в лечении венозных трофических язв при соблюдении определенных показаний [Насыров М.В., 2016; Mosti G., 2018]. В то же время остается ряд нерешенных вопросов, касающихся межклеточных взаимодействий, протекающих в венозной язве под действием ФДТ. В доступных источниках отсутствует единая точка зрения относительно эффективности ФДТ и АФДТ в лечении ВТЯ. В то же время, до настоящего момента не проводились экспериментальные исследования на животной модели по оценке эффективности ФДТ и АФДТ в лечении ВТЯ. Существующий пробел в знаниях не позволяет полноценно оценить влияние ФДТ и АФДТ на морфологические изменения в тканях в области трофической язвы, объективно описать сравнительную эффективность данных методик, что служит основанием для выполнения данной работы [Ищук А.В., 2008; Lei X., 2015; Grandi V., 2018].

Цель исследования

Улучшить результаты лечения пациентов с ХВН в стадии трофических расстройств путем включения фотодинамического воздействия на венозные язвы.

Задачи исследования

1. Оценить эффективность фотодинамической терапии и антибактериальной фотодинамической терапии в комплексном лечении трофических язв в эксперименте *in vivo* и сравнить их со стандартными методиками лечения ВТЯ.
2. Изучить морфологические особенности течения венозной язвы при воздействии на нее фотодинамической терапии.
3. Оценить качество жизни (КЖ) пациентов после проведения фотодинамической терапии с использованием универсальной шкалы SF-36, специфического опросника CIVIQ-20, а также шкалы оценки тяжести ХЗВ VCSS.
4. Разработать алгоритм лечения венозных трофических язв с применением фотодинамической терапии.

Научная новизна

Нами было произведено исследование воздействия антибактериальной фотодинамической терапии на венозную трофическую язву. Впервые проведена морфологическая оценка биоптатов венозной трофической язвы после фотодинамического воздействия с использованием разных видов фотосенсибилизаторов в эксперименте.

Произведена сравнительная оценка эффективности лечения венозных трофических язв методом фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизаторов Фотосенс и Холосенс.

На основании экспериментальных данных разработан комплексный подход в лечении больных с трофическими язвами при хронической венозной недостаточности с применением фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами Фотосенс и Холосенс.

Изучена возможность применения фотосенсибилизатора Холосенс для лечения венозных трофических язв методом фотодинамической терапии в клинической практике.

Доказана эффективность лечения венозных трофических язв методом фотодинамической терапии с использованием фотосенсибилизатора Фотосенс.

Проведена оценка качества жизни пациентов с венозными трофическими язвами при применении фотодинамической терапии с использованием универсальной шкалы SF-36, использованием специфического опросника CIVIQ20, а также шкалой оценки тяжести ХЗВ VCSS.

На основании результатов экспериментального и клинического исследований разработан алгоритм лечения венозных трофических язв с применением фотодинамической терапии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработаны и внедрены в клиническую практику методы консервативного лечения венозных трофических язв, которые включают в себя применение фотодинамической терапии наряду с традиционными методами лечения. Показана высокая эффективность использования антибактериальной фотодинамической терапии в лечении ВТЯ в эксперименте, что открывает перспективу использования данного метода в клинике. Включение фотодинамической терапии в комплексное лечение пациентов с ВТЯ позволяет улучшить качество жизни пациентов на физическом, психологическом, социальном и эмоциональном уровнях, с одновременным снижением сроков пребывания пациента в стационаре. Доказана активация регенераторных процессов на морфологическом уровне: снижение массы некротического детрита, улучшение показателей клеточного состава, снижение отека дермы и ускорение созревания грануляционной ткани и эпителизации по сравнению со стандартной терапией венозных трофических язв. Предложенный метод местного лечения венозных трофических язв посредством фотодинамической терапии и антибактериальной фотодинамической терапии

позволяет добиться быстрого и эффективного заживления раневой поверхности. Рациональная программа консервативного лечения трофических язв венозной этиологии с использованием ФДТ может быть эффективно реализована в амбулаторных условиях и в контексте импортозамещения.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа выполнена в формате проспективного сравнительного наблюдательного исследования с применением стандартных и специальных методов диагностики с последующей оценкой результатов после проведения лечения. Исследование построено с соблюдением принципов доказательной медицины (отбор, анкетирование пациентов, статистическая обработка данных) и с учетом биомедицинской этики.

Экспериментальная часть работы была проведена с использованием методов моделирования, наблюдения и сравнения с целью исследования влияния ФДТ и АФДТ на ВТЯ. Проведение эксперимента, а также выведение животных из эксперимента выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Эксперимент произведен с разрешения локального этического комитета государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (выписка из протокола № 163 от 20.03.2017).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Антибактериальная фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизатора Холосенс обладает более выраженным снижением микробной нагрузки и ускорением процессов репарации и регенерации тканей, чем фотодинамическая терапия с использованием фотосенсибилизатора Фотосенс и стандартной терапии ВТЯ.
2. Фотодинамическая терапия и антибактериальная фотодинамическая терапия являются современным, эффективным и безопасным методом лечения венозных трофических язв, что подтверждено экспериментальными, микробиологическими, цитологическими и планиметрическими методами исследования.
3. Лечение венозных трофических язв с использованием фотодинамической терапии приводит к стойкому улучшению качества жизни пациентов на физическом, социальном и психологическом уровнях по сравнению со стандартной терапией.
4. Фотодинамическая терапия отличается неинвазивностью и практически полным отсутствием осложнений, что позволяет проводить лечение и подготовку пациентов с венозными трофическими язвами, отягощенными неблагоприятным коморбидным фоном, в том числе и у пожилых пациентов в амбулаторно поликлинических условиях с дальнейшей маршрутизацией в хирургический стационар.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным количеством пациентов, включенных в исследование, использованием современных методов исследования, соответствующих цели и задачам а также корректностью постановки *in vivo* эксперимента с надежностью использованных экспериментальных методов. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$. Результаты исследования данной работы отражены в выводах и практических рекомендациях и подтверждают положения, выносимые на защиту.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены и обсуждены на: 13-ой Международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2018); 66-ой Всероссийской научной конференции молодых ученых и студентов с международным участием (Курск, 2018); PDT & PD Update 2018 (Мюнхен, Германия, 2018); Международном молодежном форуме «Неделя Науки», (Ставрополь, 2019); PDT & PD Update 2020 (Мюнхен, Германия, 2020); 21-st European venous forum (Гринфорд, Англия, 2021).

Личный вклад автора

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Автор принимал участие в выборе направления исследования, постановке цели и задач. Автор изучил отечественные и зарубежные источники литературы по теме исследования.

Автором разработаны дизайн и программа исследования. Диссертант участвовал в диагностике, лечении и динамическом наблюдении пациентов с ХВН в стадии трофических расстройств (СЕАР 6).

Диссертант самостоятельно произвел экспериментальную часть работы, с дальнейшей систематизацией полученных результатов, их статистическую обработку, сформулировал научные положения, выводы и практические рекомендации. Автор лично участвовал в подготовке к публикации печатных работ по теме научной работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.9 – Хирургия. Результаты проведенной работы соответствует области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 4 и 6 паспорта хирургии.

Внедрение результатов работы в практическое здравоохранение

Результаты работы внедрены в практику хирургического и паллиативного отделений автономной некоммерческой организации «Центральная клиническая больница» Святителя Алексия Митрополита Московского Московской патриархии Русской православной церкви г. Москвы; хирургического отделения № 3

Государственного автономного учреждения здравоохранения Московской области «Химкинская областная больница».

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, отражающих ее содержание, из них 2 – в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ для публикации основных результатов диссертационной работы на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложений и указателя литературы, включающего в себя 175 источников (53 отечественных и 122 зарубежных). Диссертация иллюстрирована 19 таблицами и 25 рисунками, двумя клиническими примерами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа состоит из двух частей: экспериментальной и клинической. Клиническая часть работы выполнена на базе кафедры факультетской хирургии № 2 лечебного факультета ФГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (заведующий кафедрой – д.м.н., профессор Болдин Б.В.) в хирургическом и паллиативном отделениях автономной некоммерческой организации «Центральная клиническая больница» Святителя Алексия Митрополита Московского Московской патриархии Русской православной церкви г. Москвы (главный врач – Заров А.Ю.) с 2016 по 2021 гг..

Экспериментальное исследование проводилось в виварии отдела экспериментальной хирургии института клинической хирургии ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (заведующий отделом – д. м. н., профессор Эттингер А. П.).

Экспериментальное исследование состояло из двух этапов. На первом этапе – создание модели трофической язвы венозной этиологии, на втором этапе – разделение кроликов на три группы, с дальнейшим облучением ФДТ и динамическими обследованиями.

Экспериментальными животными явились 21 кролик вида «Советская шиншилла» в возрасте 6 месяцев обоего пола с массой тела от 1,5 до 2,0 кг.

После предварительной обработки кожи в асептических условиях под наркозом на подготовленном участке кожи производили оперативный доступ к бедренной вене с дальнейшим прошиванием через центр сосуда и перевязкой 1/2 вены, что приводило к сужению просвета вены в 2 раза (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Перевязка 1/2 бедренной вены у кролика

Далее выполняли иссечение кожи по задненаружной поверхности нижней трети бедра до поверхностной фасции в виде круга диаметром 40 мм. с последующим рассечением поверхностной фасции. Рану стягивали кистным швом, доводя ее в диаметре до 35 мм. Накладывали асептическую повязку. После формирования трофической язвы, кролики были разделены на три группы, по семь животных в каждой, в зависимости от применяемого метода лечения.

В контрольной группе была применена местная терапия, включающая в себя ежедневные перевязки трофической язвы без использования ФДТ. В группе ФДТ, на фоне аналогичной местной терапии была проведена процедура фотодинамической терапии с использованием ФС Фотосенс. В группе АФДТ, на фоне аналогичной местной терапии, была проведена процедура фотодинамической терапии с использованием ФС октакатионного фталоцианина цинка (Холосенс). Применяемые ФС использовались в форме раствора в концентрации 500 мкг/мл на 200 мл 0,9% физиологического раствора.

После аппликации салфетки с фотосенсибилизатором на трофическую язву, ее накрывали асептической повязкой и животных помещали в темный бокс. Через 24 часа после аппликации повязку удаляли, а трофическую язву равномерно облучали лазерным излучением полупроводникового лазерного аппарата «ЛФТ-02-Биоспек». Длина волны при использовании ФС Холосенс составила $661 \pm 0,03$ нм, а при использовании ФС Фотосенс – 676 нм. Плотность мощности равнялась $1,0 \text{ Вт/см}^2$, плотность энергии за сеанс составляла 25–30 Дж/см².

Время проведения лазерного воздействия колебалось от 5 до 10 минут. Суммарное количество сеансов: 5. При этом удельная доза лазерного облучения составляла 150-200 Дж/см².

Для оценки динамики уменьшения площади ВТЯ применяли планиметрическое исследование. Площадь раневой поверхности определяли на 1-е, 9-е, 15-е и 21-е сутки. Бактериологическое исследование проводили до лечения,

на 9-е и 15-е сутки после начала лечения. На 1-е, 9-е и 15-е сутки было проведено патоморфологическое исследование язвенных дефектов с использованием окраски гематоксилином и эозином.

Статистическая обработка полученных данных была осуществлена методами описательной статистики, характер распределения оценивался графическим методом. Характер распределения считали нормальным при $p > 0,05$. Результаты представлены в виде средних значений и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$) для показателей с нормальным распределением признака. При отсутствии нормального распределения значения признака представлены в виде медианы и интерквартильного размаха [25%; 75%] (Me [25%; 75%]). При нормальном распределении использовали критерий t : парный – при изучении динамики показателей внутри группы, непарный – при сравнении независимых выборок (между исследовавшимися группами). При изучении показателей с распределением, отличавшимся от нормального, применяли критерии Вилкоксона и Манна – Уитни. Для оценки взаимосвязи между отдельными показателями использовали корреляционный анализ (с расчетом коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена). Коэффициент корреляции считали значимым при $p < 0,05$. Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2019 (Microsoft Corp., США) и Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

В основу клинической части работы положены результаты обследования и лечения 213 пациентов с трофическими язвами венозной этиологии (6 класс по CEAP), наблюдавшиеся в автономной некоммерческой организации «Центральная клиническая больница» Святителя Алексия в период с 2016 по 2020 годы. Варикозная болезнь нижних конечностей диагностирована у 126 пациентов (59,15%), посттромбофлебитическая болезнь — у 87 пациентов (40,85%). В зависимости от применяемых методик лечения больные были разделены на две клинические группы. Группы были сформированы таким образом, что разница по распределению пациентов по основным демографическим и клиническим показателям оказалась статистически незначимой ($p < 0,05$).

Основную группу составили 100 пациентов, комплексное лечение которых проводилось с применением ФТД. Средний возраст больных с венозными язвами составил $66,7 \pm 12,4$ лет, первоначальная площадь язв — от 0,2 до 45 см² ($8,15 \pm 1,83$), а длительность их существования до начала лечения — $4,51 \pm 0,65$ года.

Контрольная группа состояла из 113 пациентов, лечение которых проводилось без использования ФТД. Средний возраст больных составил $61,22 \pm 11,7$ лет, первоначальная площадь венозных трофических язв — от 0,2 до 48,5 см² ($8,32 \pm 1,05$ см²), длительность их существования до начала ФТД — $4,73 \pm 0,85$ года.

Всем больным было проведено УЗДГ на аппарате Philips EPIС 5, с целью определения состоятельности клапанного аппарата, проходимости вен, признаков перенесенного тромбоза.

Определение площади язвенного дефекта проводилось с использованием программы Lesion Meter, которая позволяла точно определять площадь язвенного дефекта до лечения, на 10 и 28 сутки. Кроме того, на 10 и 28 сутки язвы фотографировались.

Бактериологические исследования предусматривали проведение в динамике качественного и количественного анализа микрофлоры. Взятие материала производили тампоном во время очередной перевязки и доставляли его в бактериологическую лабораторию с целью выделения и идентификации микроорганизмов. Выполняли окраску нативного мазка по Граму и посев исследуемого материала на жидкие и плотные питательные среды. Идентификацию выделенных микроорганизмов выполняли на основании морфологических и биохимических характеристик. Бактериологическое исследование проводилось в ГБУЗ города Москвы «Диагностический центр (Центр лабораторных исследований) Департамента здравоохранения города Москвы» ГБУЗ «ДЦЛИ ДЗМ».

Цитологическое исследование проводилось с помощью метода «раневых отпечатков». Цитологическое исследование производилось до лечения, на 10-е и 20-е сутки.

Оценка КЖ производилась при помощи специальных опросников.

Непосредственную оценку КЖ производили с использованием опросника SF-36.

Тяжесть симптомов ХЗВ оценивали по клинической шкале оценки тяжести венозных заболеваний VCCS (Venous Clinical Severity Score).

Также, качество жизни пациентов определялось по опроснику CIVIQ 20 (Chronic Venous Disease Quality of Life Questionnaire).

Методика проведения процедуры фотодинамической терапии включала в себя два этапа. На первом этапе производилась аппликация водного раствора фотосенсибилизатора Фотосенс (сульфированный фталоцианин алюминия) с экспозицией на 24 часа в дозе из расчета 0,5 мг/кг на 200 мл 0,9% физиологического раствора. Вторым этапом, с использованием лазерной установки ЛФТ-02-«Биоспек» проводилась активация препарата низкоинтенсивным лазерным излучением. Длина волны при использовании составила 676 нм. Плотность мощности 1,0 Вт/см², плотность энергии за сеанс составляла 25–30 Дж/см².

Сеансы проводились во время перевязок. Их количество зависело от состояния язвенного дефекта и в среднем составило 5 сеансов.

Результаты исследования и их обсуждение

Динамика изменения площади ВТЯ в эксперименте

В клинической картине раневого процесса у кроликов всех трех групп в первые пять суток существенных различий не отмечалось.

В контрольной группе к девятым суткам при сохранении перифокальной реакции площадь раны уменьшилась в среднем на 21,42 %, а на пятнадцатые до 35,71 % от исходной (Таблица 1).

Таблица 1 – Динамика изменения площади трофических язв (в мм²) в трех экспериментальных группах

Группы	Период наблюдения (сутки)			
	1-е сутки	9-е сутки	15-е сутки	21-е сутки
Контрольная группа (n=7)	320 ± 81,13	251,8* ± 53,07	206,2* ± 52,13	160,7* ± 2,01
Группа ФДТ (n=7)	318,5 ± 72,3	142,07** ± 73,4	81,53** ± 71,9	0**
Группа АФДТ (n=7)	317,3 ± 83,56	124,7** ± 84,6	0***	0**

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с 1-ми сутками лечения. ** - достоверное отличие от контрольной группы. *** - достоверное отличие от группы ФДТ и контрольной группы

При этом в группе ФДТ (на 9-е сутки), при слабой перифокальной реакции площадь раны уменьшилась на 55,38 %, отека не определялось. В группе АФДТ отека вокруг язвенного дефекта также не было, а площадь раны сократилась до 60,73%. Дно раны было выполнено яркой грануляционной тканью.

В группе ФДТ перифокальная реакция и отек исчезли на пятнадцатые сутки. Площадь раны уменьшилась на 74,36%, а в группе АФДТ трофические язвы зажили у всех кроликов ($p < 0,05$).

К концу эксперимента на 21-е сутки, в контрольной группе площадь язв сократилась вдвое, отека не определялось, гиперемия уменьшилась. В группе ФДТ трофические язвы зажили.

Таким образом, полученные данные планиметрического исследования показывают, что использование ФДТ и АФДТ достоверно ускоряют процессы заживления ВТЯ. По всей видимости, это связано с бактерицидным действием ФДТ, которое приводит к подавлению патологического воздействия микроорганизмов на ткани и ускоряет заживление язвы.

Результаты бактериологического исследования у экспериментальных животных

До начала лечения исходный микробный пейзаж не различался у кроликов всех трех групп, а микробная обсемененность ран составляла 10^8 - 10^9 КОЕ/г, достоверного различия между группами кроликов не выявлено. Следует отметить, что до лечения у всех 21 кроликов со сформированными ВТЯ высевалась вирулентная микрофлора, представленная *Staphylococcus aureus* ($3,25 \pm 0,05 \times 10^6$ Е), *Pseudomonas aeruginosa* ($4,20 \pm 0,05 \times 10^6$ Е), *Proteus mirabilis* и др. В процессе проводимого местного лечения микробная обсемененность ран прогрессивно уменьшалась, но с разной скоростью в разных группах (Рисунок 2).

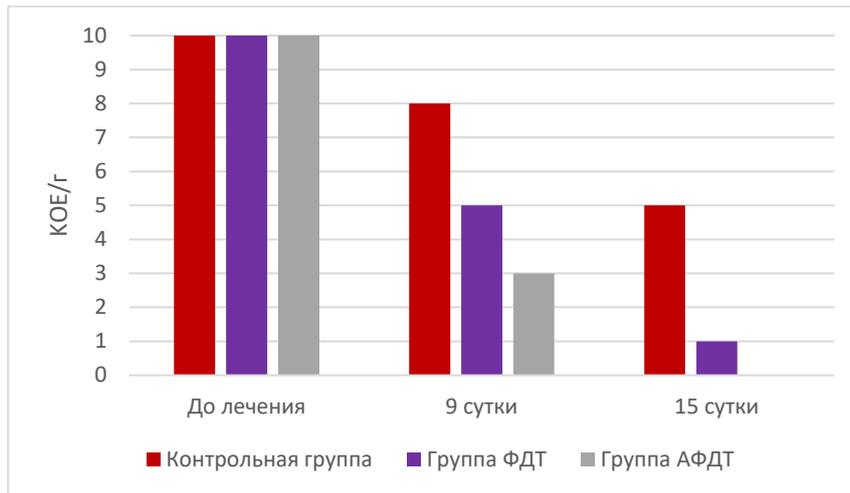
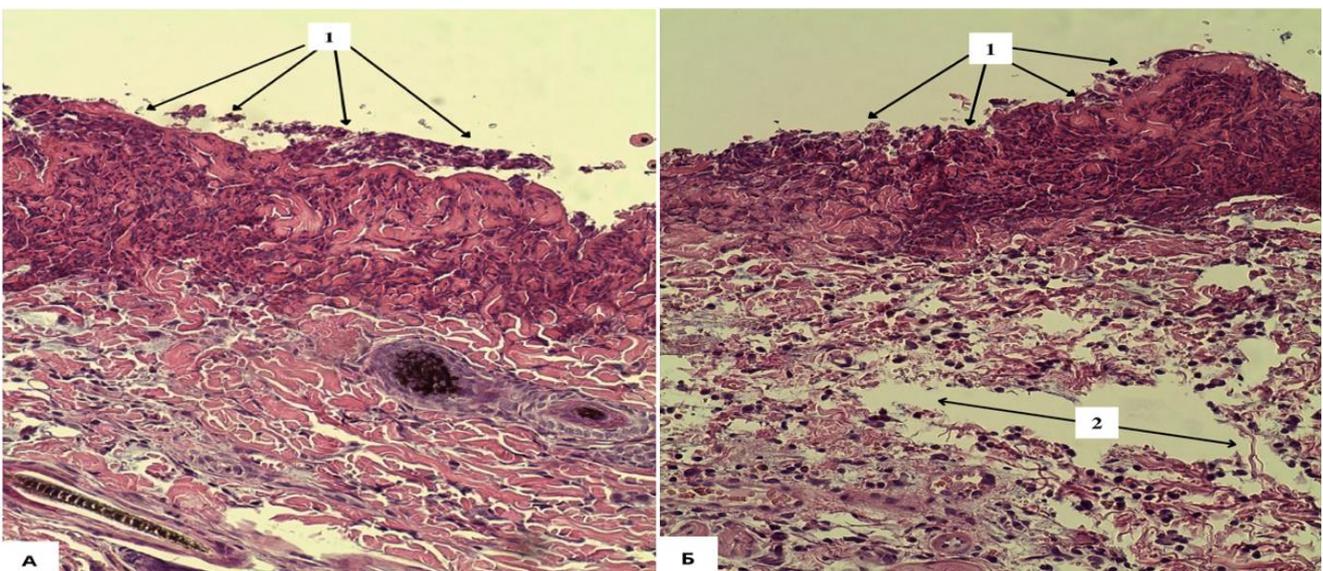


Рисунок 2 – Динамика бактериальной обсемененности венозных язв в процессе ФДТ

По результатам бактериологического исследования у экспериментальных животных на 15-е сутки в контрольной группе количество микробных тел сократилось с 10^{10} до 10^5 КОЕ/г. При этом в группе ФДТ высеваемость микроорганизмов составила 10^1 КОЕ/г, а в группе АФДТ на 15 сутки бактериальные посевы были стерильные. Таким образом, результаты бактериологического исследования показали, что воздействие ФДТ и АФДТ способствует снижению микробной нагрузки с параллельным ускорением заживления язвы, что открывает перспективу использования ФДТ и АФДТ в случае резистентности микроорганизмов к антибактериальной терапии.

Результаты патоморфологического исследования

При патоморфологическом исследовании во всех трех группах в первые сутки эксперимента во фрагментах кожи отмечался некроз эпителия, подэпителиальный и внутридермальный отек, а также воспалительная инфильтрация с полнокроем кровеносных сосудов (Рисунок 3).



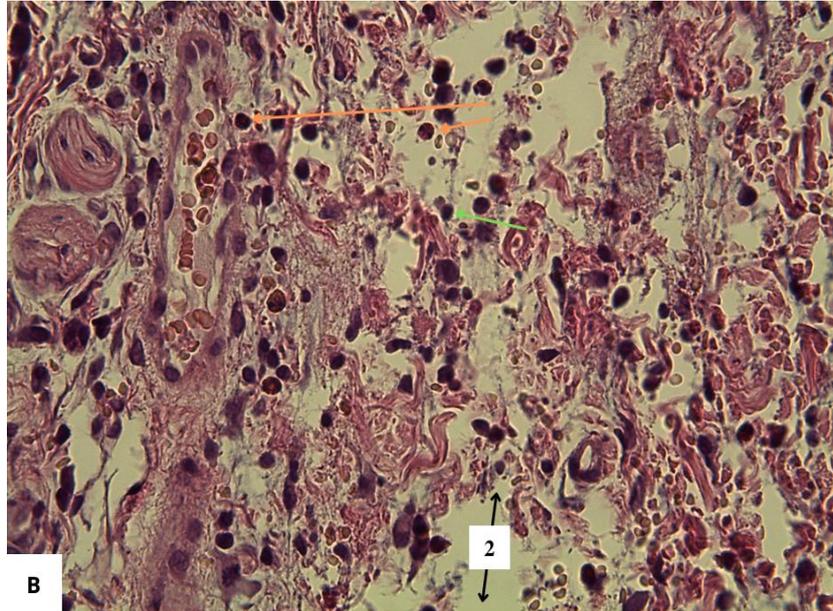
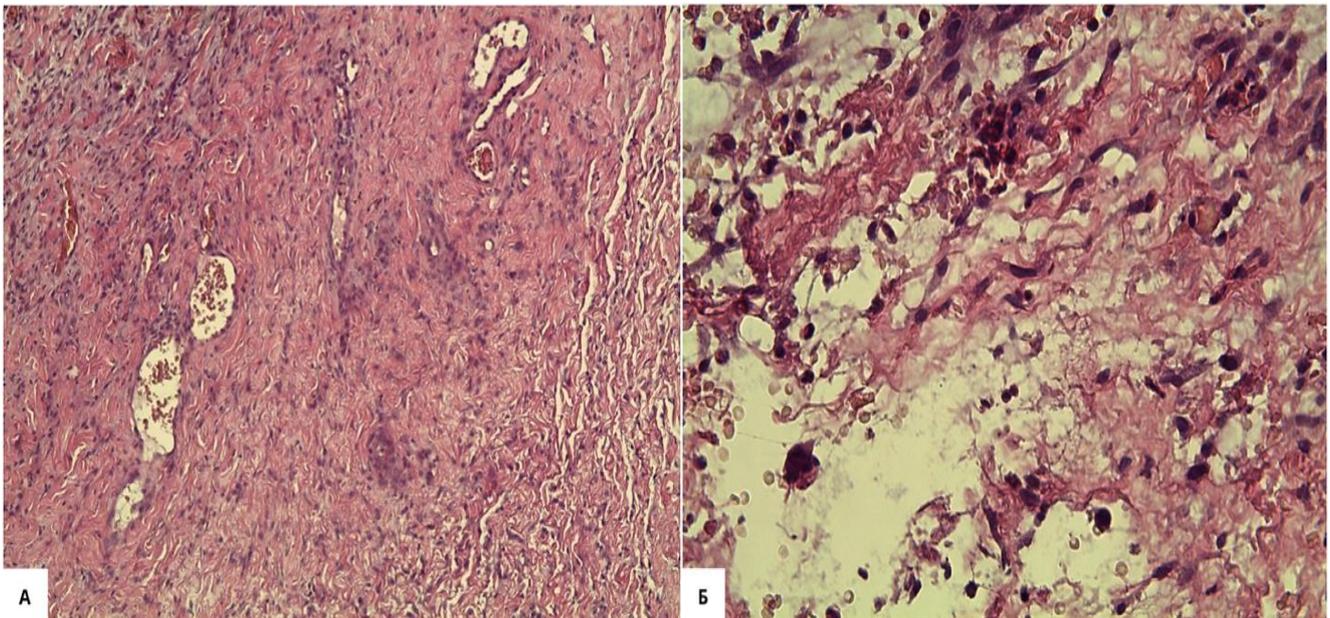


Рисунок 3 – Морфологическая картина на 1-е сутки: микропрепарат х40. Окраска гематоксилин-эозином: А – контрольная группа. Б – группа ФДТ. В – группа АФДТ: воспалительная инфильтрация за счет сегментоядерных и эозинофильных лейкоцитов (стрелка) с примесью лимфоцитов (двойная стрелка). 1 – некротический пласт, 2 – внутридермальный отек.

Воспалительная инфильтрация была представлена сегментоядерными и эозинофильными лейкоцитами с примесью лимфоцитов. Отмечалось полнокровие кровеносных сосудов, мелкоочаговые кровоизлияния.

На 9-е сутки эксперимента в контрольной группе определялись отдельно лежащие пласты некроза с массивной лейкоцитарной инфильтрацией (Рисунок 4).



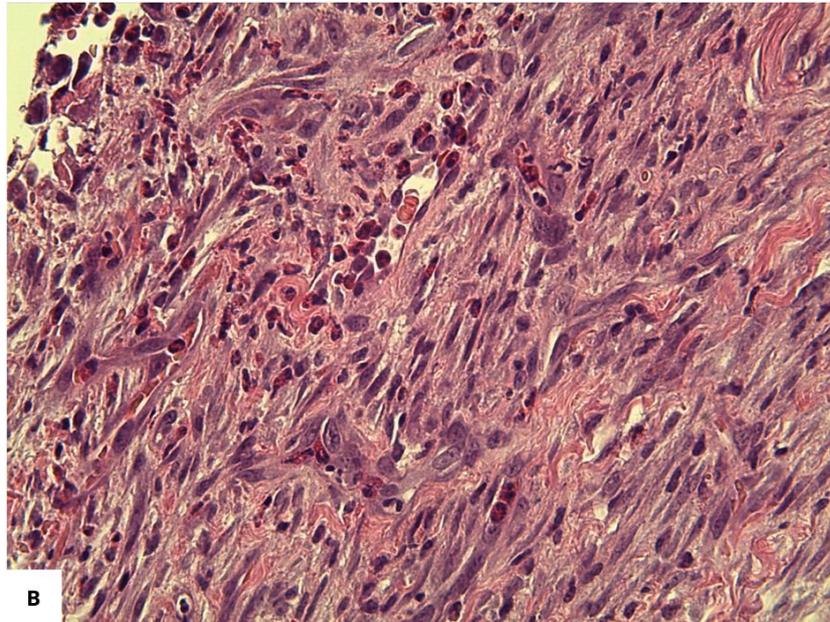
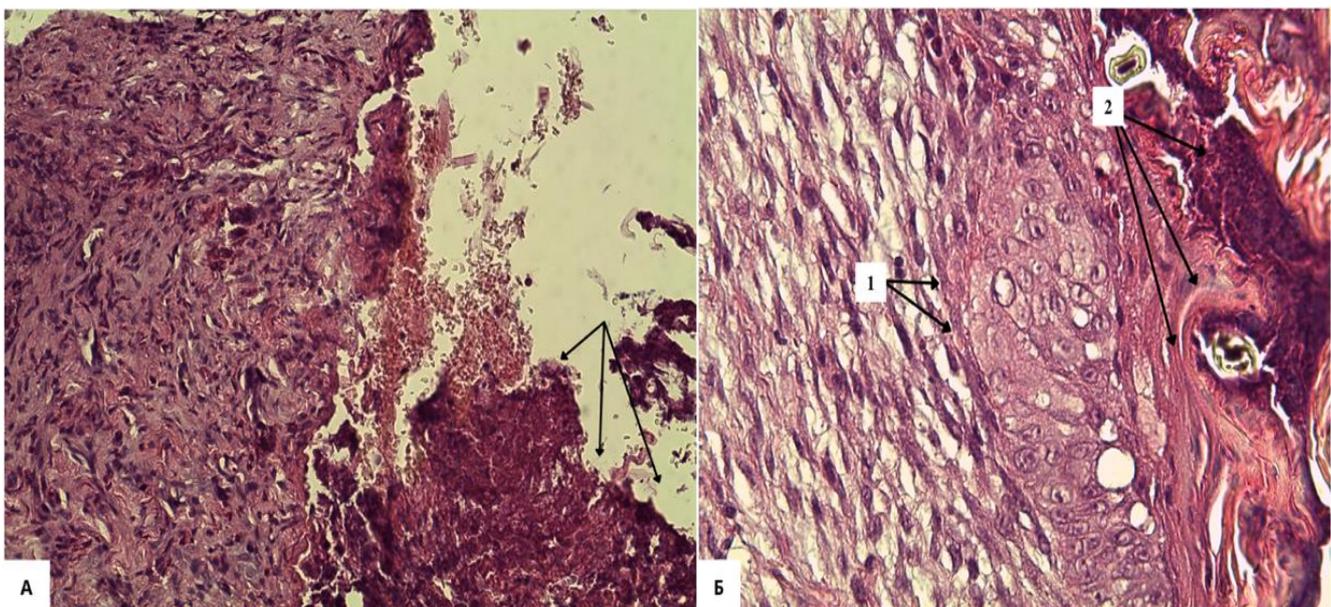


Рисунок 4 – Морфологическая картина на 9-е сутки: микропрепарат х40. Окраска гематоксилин-эозином. А – контрольная группа. Б – группа ФДТ. В – группа АФДТ.

На 9-е сутки в группе ФДТ определялись участки формирования молодой грануляционной ткани. В дерме отмечено большое количество сосудов с активной клеточной реакцией вокруг них. При этом, в группе АФДТ отмечается умеренно выраженная воспалительная инфильтрация (в сравнении с контрольной и группой ФДТ) с примесью сегментоядерных и эозинофильных лейкоцитов, макрофагов, лимфоцитов.

На 15-е сутки в контрольной группе определялись отдельно лежащие пласты некроза с массивной лейкоцитарной инфильтрацией (Рисунок 5).



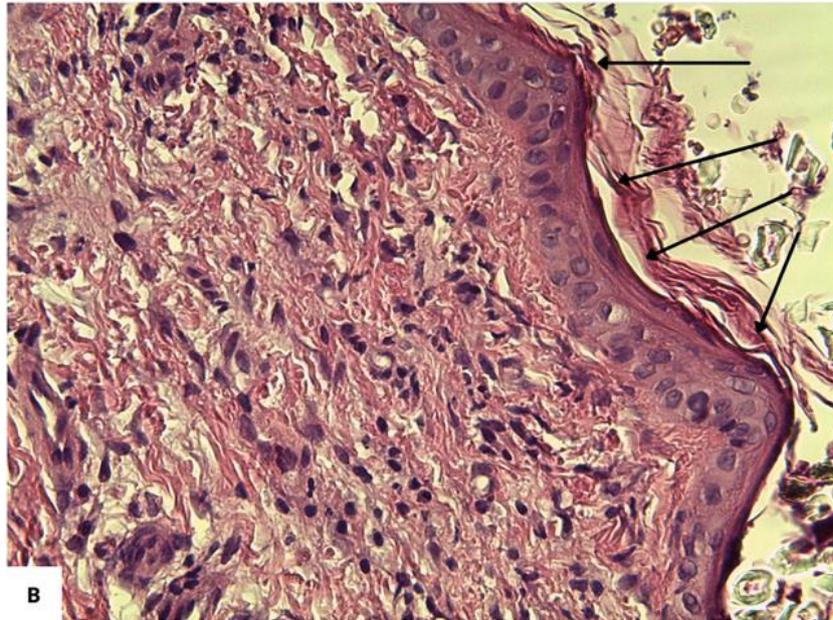


Рисунок 5 – Морфологическая картина на 15-е сутки: микропрепарат х20. Окраска гематоксилин-эозином: А – контрольная группа, стрелкой отмечен пласт некроза. Б - группа ФДТ. В – группа АФДТ, стрелками указано формирование нескольких слоев эпителиоцитов с очаговой гиперплазией клеточных элементов эпидермиса. 1 – базальная мембрана. 2 – признаки очищения язвы

При этом нами выявлено, что в группе ФДТ подэпителиальный и внутридермальный отек выражены незначительно. Вместе с тем, в поле зрения определяются единичные макрофаги и лимфоциты. В сравнении с контрольной и группой ФДТ, в группе АФДТ подэпителиального и внутридермального отека нет, определяются многочисленные макрофаги и лимфоциты. В сравнении с контрольной и группой ФДТ, у кроликов группы АФДТ признаки очищения язвенного дефекта выражены более ярко.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об эффективности воздействия ФДТ и АФДТ на морфологическом уровне, что проявилось в снижении массы некротического детрита, улучшении показателей клеточного состава, снижении отека дермы а также в ускорении созревания грануляционной ткани по сравнению с группой контроля. Также ФДТ способствовало формированию полноценного соединительнотканного и эпителиального регенератов в более сжатые сроки.

Результаты клинической части работы

По данным бактериологических исследований до начала лечения в микрофлоре венозных трофических язв у всех пациентов в обеих группах было выявлено 261 различных штаммов микроорганизмов.

Грамположительная флора высеяна в 61,2% случаев, причем почти у половины этих больных высеян *Staphylococcus aureus* (48,3%), а грамотрицательная флора высеяна в 38,8% случаев, с преобладанием *Proteus mirabilis* (15,9%) и *Pseudomonas aeruginosa* (13,3%).

Таким образом, исследование бактериального многообразия в ВТЯ до начала лечения показало, что наиболее часто в ВТЯ преобладает ассоциативная полимикробная аэробно-анаэробная микрофлора с доминированием грамположительных микроорганизмов (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Соотношение грамположительной и грамотрицательной флоры (в %) у пациентов обеих групп до начала лечения

Другие микроорганизмы проявлялись с частотой менее 6%. Из этого следует, что грамположительная микрофлора с преобладанием *Staphylococcus aureus* предопределяла клиническое течение местного инфекционного процесса у больных с ВТЯ.

До лечения исходный микробный фон у пациентов обеих групп не различался и составлял в среднем 10^5 - 10^9 КОЕ/г. В процессе проводимого лечения получена значимая динамика снижения микробного обсеменения, достоверно различавшаяся в основной и контрольной группах (Рисунок 7).

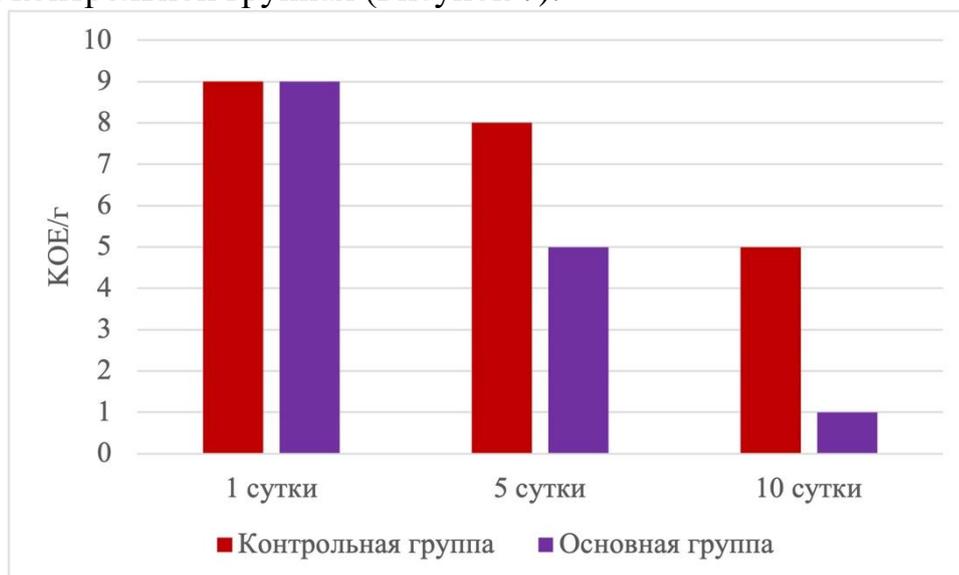


Рисунок 7 – Динамика бактериальной обсемененности ВТЯ в процессе ФДТ в основной и контрольной группах

После курса ФДТ у пациентов основной группы роста микрофлоры не определялось, при этом у пациентов контрольной группы уровень бактериальной контаминации на 10 сутки составил 10^5 КОЕ/г.

Таким образом, проведенное бактериологическое исследование выявило достоверные различия в степени снижения уровня бактериальной контаминации у пациентов основной группы по сравнению с контрольной что свидетельствует о выраженном бактерицидном эффекте ФДТ по сравнению с традиционным методом лечения ВТЯ

По результатам цитологического исследования уже на 10 сутки у пациентов основной группы отмечалось преобладание регенераторно-воспалительного типа цитограммы. В то же время, в контрольной группе превалировал воспалительно-регенераторный тип цитограммы, а регенераторно-воспалительный выявлен только у четверых (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты цитологического исследования ВТЯ на 20-е сутки у пациентов обеих групп

Тип цитограммы	Группы пациентов	
	Основная (n=100)	Контрольная группа (n=113)
Дегенеративно - воспалительный	0	0
Воспалительный	0	10(8,8 %)
Воспалительно-регенераторный	13(13%)*	36(31,8 %)
Регенераторно-Воспалительный	32(32%)*	63(55,7%)
Регенераторный	55(55%)*	4(3,5%)

Примечание: * – $p < 0,05$ статистически значимые отличия от показателей контрольной группы

По истечении двадцати суток в основной группе количество пациентов с регенераторным типом цитограммы увеличилось, в среднем в 4,6 раза. При этом воспалительный тип цитограммы не выявлялся, тогда как в контрольной группе он проявился у десяти пациентов.

Таким образом, полученные данные цитологического исследования свидетельствуют о том, что у пациентов с ВТЯ, которым применяли ФДТ, значительно быстрее начинаются регенераторные процессы, что выразилось в более быстром переходе к регенераторным типам цитограмм.

Результаты планиметрических исследований

Сравнение стандартной схемы лечения ВТЯ и метода лечения с использованием ФДТ показало, что применение ФДТ в комплексном лечении ВТЯ сокращает сроки очищения язв, ускоряет появление грануляционной ткани, форсирует заживление язвенного дефекта почти в 2 раза. В указанных клинических группах наблюдалось постепенное уменьшение площади венозных трофических язв. Сравнение стандартной схемы лечения ВТЯ и метода лечения с использованием ФДТ за весь срок лечения показало, что применение ФДТ в комплексном лечении ВТЯ сокращает сроки очищения язв в 1,75 раз, ускоряет появление грануляционной ткани в 1,66 раз, форсирует заживление в 1,87 раз ($p < 0,05$).

Так, в процессе ФДТ, средняя продолжительность лечения в основной группе составила 16 суток, тогда как в контрольной группе данный показатель составил 30 дней (Таблица 3).

Таблица 3 – Основные показатели течения раневого процесса в основной и контрольной группах (в днях)

Группы пациентов	Показатели течения раневого процесса (сутки)		
	Очищение раневой поверхности	Появление грануляций	Заживление
Контрольная группа (n=113)	7±3	10±2	30±4
Основная группа (n=100)	4 ± 2*	6 ± 3*	16 ± 4*

Примечание: * – достоверность отличия от показателей контрольной группы ($p < 0,05$)

В результате лечения с использованием ФДТ, у пациентов основной группы наблюдалась полная эпителизация трофических язв. Проведенные клинические исследования подтверждают очевидные преимущества фотодинамической терапии венозных трофических язв в сравнении со стандартным лечением (Рисунок 8).



Рисунок 8 – Результат лечения венозной трофической язвы с использованием ФДТ

А - Вид трофической язвы в начале лечения

Б - Результат лечения спустя 6 месяцев

В ходе оценки КЖ с использованием шкалы SF-36 было выявлено улучшение по четырём шкалам у пациентов основной группы в сравнении с контрольной (Рисунок 9).

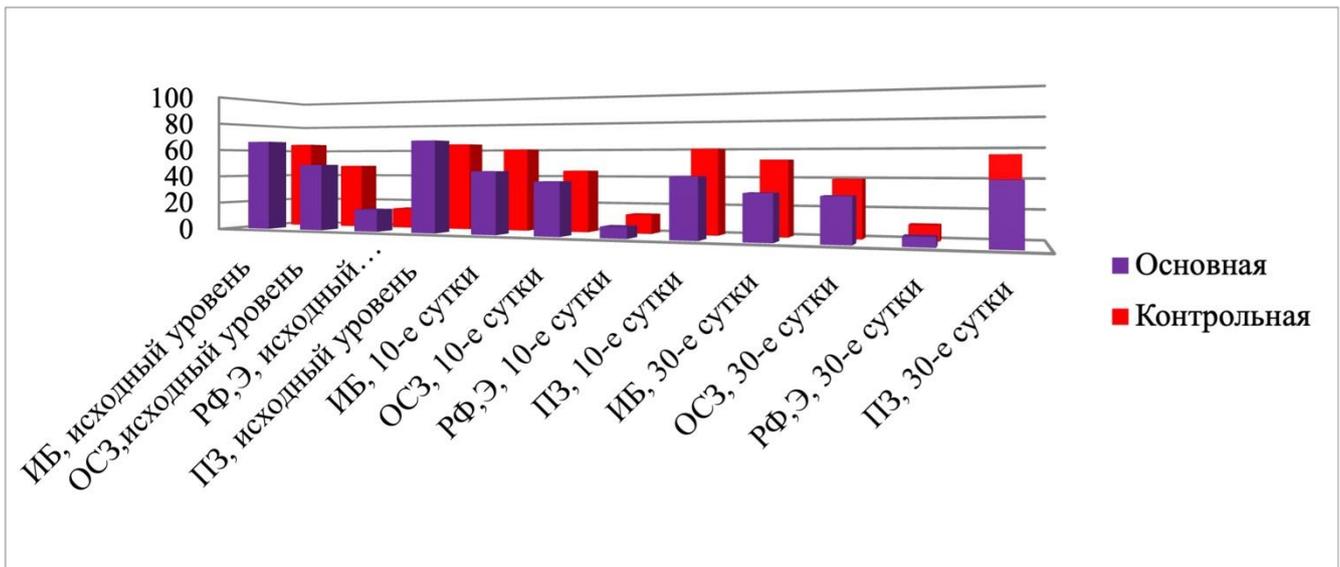


Рисунок 9 – Сравнительная оценка показателей «Интенсивность боли» (ИБ), «Общее состояние здоровья» (ОСЗ), «Психическое здоровье» (ПЗ), «Ролевое эмоциональное функционирование» (РФ,Э) в исходе, на 10-е и 30-е сутки

Так, на фоне применения ФДТ выявлено достоверное улучшение показателей КЖ по шкалам «Интенсивность боли» на 53 % меньше от исходного уровня, в то время как в контрольной группе на 16,92 %. По шкале «Общее состояние здоровья» в основной группе было отмечено уменьшение данного показателя на 38,89 % по сравнению с 16,52 % с контрольной группой ($p < 0,05$). Показатель «Ролевое эмоциональное функционирование» у пациентов основной группы на 30 сутки составил $6,3 \pm 3,6$ балла, а у пациентов контрольной группы – $10,3 \pm 2,4$ ($p < 0,05$), а показатели психического здоровья близки на 30 сутки к статистической достоверности - $40,3 \pm 5,0$ и $55,6 \pm 5,1$ соответственно ($p < 0,05$).

При использовании опросника CIVIQ-20, на фоне лечения отмечена более выраженная положительная динамика со стороны оценки показателей «Болевого фактора» ($6,05 \pm 0,79$ и $9,98 \pm 0,7$ соответственно) с лучшим результатом в пользу ФДТ, «Социального фактора» (снижение с $20,25 \pm 4,97$ до $6,67 \pm 4,35$ балла; $p < 0,05$), а также «Психологического фактора» (снижение с $18,42 \pm 1,8$ до $7,9 \pm 5,00$ балла; $p < 0,05$), и общей оценки в основной группе по сравнению с контрольной (снижение с $63,82 \pm 7,4$ до $27,65 \pm 7,2$ балла; $p < 0,05$). При этом, по нашим данным, в исходе показатель выраженности боли у пациентов основной группы превосходил значение данного показателя в контрольной группе. Очевидно, что применение ФДТ способствовало снижению болевого синдрома, что благоприятно влияло на психологический комфорт пациентов с ВТЯ (Рисунок 10).

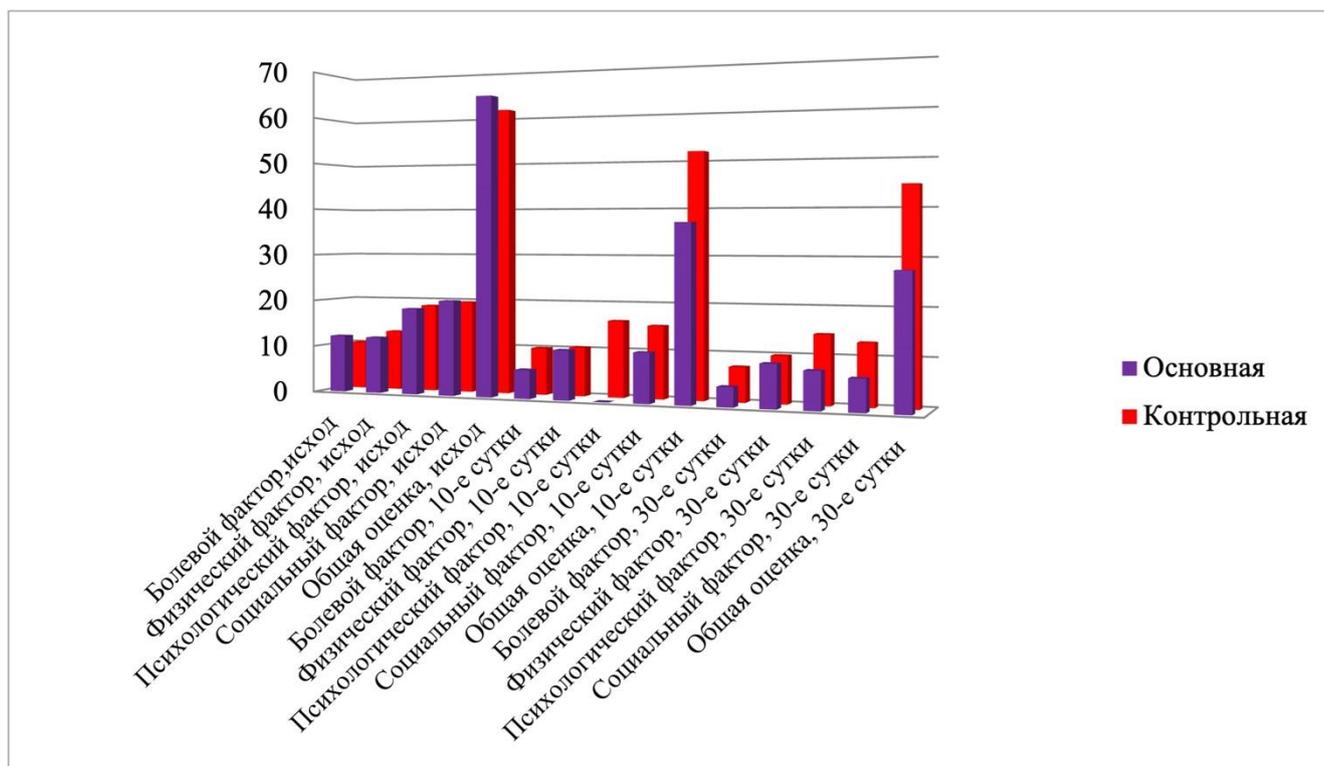


Рисунок 10 – Сравнительная оценка показателей «Болевой фактор», «Физический фактор», «Психологический фактор», «Социальный фактор» и «Общая оценка» в исходе, на 10-е и 30-е сутки ($p < 0,05$)

Анализ клинической картины с использованием шкалы VCSS показал доминирующее влияние на субъективный статус пациентов таких показателей как «Боль», «Воспаление», «Число активных язв», «Размер язв» (Рисунок 11).

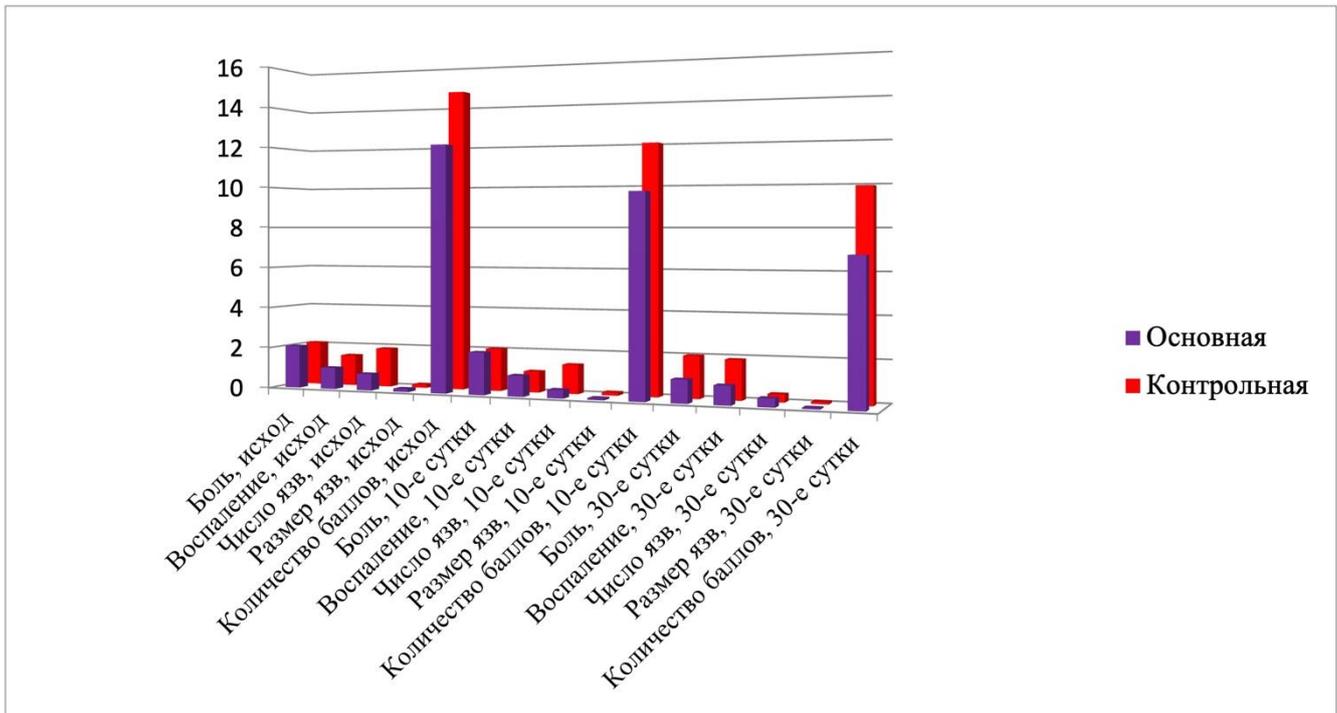


Рисунок 11 – Сравнительная оценка показателей «Боль», «Воспаление», «Число язв», «Размер язв» и «Количество баллов» в исходе, на 10-е и 30-е сутки

Обратила на себя внимание положительная динамика показателей клинической картины на 30-е сутки после начала лечения, более выраженная по шкале «Воспаление», «Количество активных язв» (снижение с 0,8 до 0,4 баллов; $p < 0,05$), «Длительность активных язв» (снижение с 0,18 до 0,67 баллов; $p < 0,05$). Влияние болевого синдрома на КЖ оказалось более выражено у пациентов основной группы, - показатели по этой шкале в исходе были у них выше, чем у больных контрольной группы, получавших стандартное лечение.

Полученные нами результаты убедительно доказывают, что ФДТ влияет не только на репаративные процессы и морфологические изменения в язве, состояние микробного фона и скорость заживления ВТЯ, но и оказывает существенное положительное влияние на КЖ пациентов, что является целевым показателем современной медицины.

Таким образом, результаты, полученные в ходе проведения данной научной работы и подтвержденные статистическим анализом, демонстрируют высокую эффективность и безопасность применения ФДТ в лечении пациентов с ВТЯ.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Перспективами дальнейшей разработки темы являются исследования по поискам новых методов лечения ВТЯ, а также усовершенствование использования ФДТ в лечении ВТЯ.

ВЫВОДЫ

1. Антибактериальная фотодинамическая терапия показала высокую терапевтическую эффективность в лечении венозных трофических язв в эксперименте. На морфологическом уровне это проявилось в снижении массы некротического детрита на 30%, снижении отека дермы на 45%, а также в ускорении созревания грануляционной ткани на 35% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

2. Экспериментальное применение антибактериальной фотодинамической терапии и фотодинамической терапии показало высокий потенциал по сравнению со стандартной методикой лечения венозных трофических язв. Так, на 15 сутки лечения трофические язвы в группе АФДТ эпителизировались. Площадь язвенной поверхности в группе ФДТ уменьшилась на 40% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Полученные данные планиметрического исследования показывают, что использование фотодинамической терапии и антибактериальной фотодинамической терапии достоверно ускоряют процессы эпителизации венозных трофических язв. Это открывает перспективу использования антибактериальной фотодинамической терапии в клинике.

3. Фотодинамическая терапия в клиническом применении способствует ускорению очищения раневой поверхности и катализации репаративных процессов. Использование фотодинамической терапии в комплексном лечении пациентов с венозными трофическими язвами сокращает сроки очищения язв в 1,75 раз, ускоряет появление грануляционной ткани в 1,66 раз, форсирует эпителизацию в 1,87 раз ($p < 0,05$).

4. В комплексном лечении пациентов с венозными трофическими язвами применение фотодинамической терапии приводит к стойкому улучшению качества жизни пациентов в отношении снижения интенсивности болевого синдрома (на 53% меньше от исходного уровня, в отличие от 16,92% в контрольной группе), социального фактора (снижение с $20,25 \pm 4,97$ до $6,67 \pm 4,35$ балла; $p < 0,05$), и психологического уровня (снижение с $18,42 \pm 1,8$ до $7,9 \pm 5,00$ балла; $p < 0,05$). Это позволяет уменьшить средний койко-день пребывания пациента в стационаре и увеличить оборот койки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При подготовке к оперативным вмешательствам, направленным на хирургическую коррекцию венозного кровотока нижних конечностей, пациентам с венозными трофическими язвами рекомендовано предварительное лечение с применением фотодинамической терапии. В случае наличия противопоказаний к операции или при отказе пациента от нее, фотодинамическую терапию следует использовать как основное лечение венозных трофических язв.

2. За время нахождения пациента в стационаре, курс фотодинамической терапии должен включать 5–7 сеансов. Для очищения трофических язв от гнойно-некротических масс следует применять специальные раневые покрытия, использовать гидрофильные мази, а также производить хирургический дебридмент. Пациент нуждается в динамическом наблюдении в ходе его нахождения в

стационаре каждый день. После выписки рекомендуется организовывать повторные визиты пациента, в среднем, 1 раз в месяц амбулаторно.

3. Применение фотодинамической терапии показано пациентам с открытыми венозными трофическими язвами СЕАР Сб. Противопоказаниями к применению фотодинамической терапии являются: наличие сопутствующей патологии в стадии декомпенсации; беременность и период лактации; повышенная кожная фоточувствительность; индивидуальная непереносимость фотосенсибилизатора.

4. Фотодинамическая терапия рекомендуется к применению в амбулаторных условиях или стационаре одного дня ввиду относительной простоты его применения, безопасности и хорошей переносимости пациентами. Также при использовании фотодинамической терапии отсутствует необходимость в применении анестезиологического пособия.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сомов Н.О. Венозные трофические язвы: современное состояние вопроса / Н.О. Сомов, П.Ю. Туркин, С.В. Родионов, И.О. Миргатия // **Лечебное дело**. – М., 2018. - №1. – С. 41-45.

2. Сомов Н.О. ФДТ трофических язв венозной этиологии / Н.О. Сомов, Д.А. Монастырская // **Материалы 13-й Международной (12-й Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых**. – М., 2018. – С. 53.

3. Somov N.O. Photodynamic treatment of venous ulcer / N.O. Somov, B.V. Boldin, Rodionov S.V., Kuzmin S.V., Turkin P.Yu // **Photodynamic therapy and photodiagnosis update 2018 Kochel am See: abstract book**. – Munich, Germany., 2018. – p. 62.

4. Somov N.O. Treatment of venous trophic ulcer, experimental study / N.O. Somov, B.V. Boldin, Rodionov S.V., Kuzmin S.V., Turkin P.Yu // **PDT & PD Update: abstract book**. – Munich, Germany., 2020. – p. 613.

5. Somov N.O. Photodynamic treatment of venous trophic ulcer / N.O. Somov, B.V. Boldin, Rodionov S.V., Kuzmin S.V., Turkin P.Yu // **PDT & PD Update: abstract book**. – Munich, Germany., 2020. – p. 614.

6. Somov N.O. Photodynamic therapy of venous ulcers / N.O. Somov, B.V. Boldin, Bogachev V. Yu., Kuzmin S.V., Turkin P.Yu // **European venous forum: e-poster scientific programme, paper P8**. – Greenford, UK., 2021.

7. Сомов Н.О. Эффективность фотодинамической терапии в лечении венозных трофических язв в эксперименте / Н.О. Сомов, Б.В. Болдин, П.Ю. Туркин, А.П. Эттингер, В.Ю. Богачев, С.Г. Кузьмин, В.Б. Лощенов, Л.М. Михалева, К.Ю. Мидибер // **Амбулаторная хирургия**. – М., 2022. - №2. – С. 82-94.