

Современные фотосенсибилизаторы в лечении больных вторичным лимфостазом нижних конечностей

Жуков Б.Н., Мельников М.А., Самарский Государственный Медицинский Университет, клиника госпитальной хирургии, НИИ «Неионизирующие излучения в медицине», г. Самара

Modern photosensitizers in treatment sick secondary lymphostasis the bottom finitenesses

Zhukov B.N., Melnikov M.A.

Резюме

Фотодинамическая терапия начала развиваться как передовая технология с 1980 года во многих ведущих институтах мира и первоначально использовалась в лечении рака, включающая три компонента: фотосенсибилизатор, источник лазерного излучения и синглетный кислород. Также проводились клинические исследования для лечения псориаза и гнойничковых поражений кожи. Фотосенсибилизатор – это химическое вещество, которое активизируется источником лазерного излучения и переходит в возбужденное состояние. Обычно используются инфракрасные источники излучения. При взаимодействии фотосенсибилизатора и источника лазерного излучения происходит образование синглетного кислорода и свободных радикалов. Обе составляющие являются мощными окислителями биомолекул, в которых они образуются и способствуют их гибели.

Ключевые слова: фотосенсибилизатор, фотодинамическая терапия, синглетный кислород.

Resume

Photodynamic therapy (PDT), matured as a feasible medical technology in the 1980s at several institutions throughout the world, is a ternary treatment for cancer involving three key components: a photosensitizer, light, and tissue oxygen. It is also being investigated for treatment of psoriasis and acne, and is an approved treatment for wet macular degeneration. A photosensitizer is a chemical compound that can be excited by light of a specific wavelength. This excitation uses visible or near-infrared light. In photodynamic therapy, either a photosensitizer or the metabolic precursor of one is administered to the patient. The tissue to be treated is exposed to light suitable for exciting the photosensitizer. Usually, the photosensitizer is excited from a ground singlet state to an excited singlet state. It then undergoes intersystem crossing to a longer-lived excited triplet state. Singlet oxygen is a very aggressive chemical species and will very rapidly react with any nearby biomolecules.

Key words: Photodynamic therapy, photosensitizer, Singlet oxygen.

Введение

Несмотря на определенные успехи, достигнутые в лечении больных с нарушениями периферического лимфооттока на фоне рожистого воспаления, результаты лечения данной категории больных не удовлетворяет хирургов [1]. В структуре лимфостазов нижних конечностей доля вторичных лимфостазов, причиной которых являются рожистые воспаления, составляет 35–40 % [2]. Более чем у 20 % больных количество рецидивов рожистых воспалений достигает 5–7 в год. Каждое последующее рожистое воспаление увеличивает степень лимфатического отёка на 3–5 % от первоначального уровня. Существующие способы консервативного и оперативного лечения недостаточно эффективны, а резекционные операции являются травматичными, часто приводящими к

развитию осложнений из-за высокой инфицированности тканей. Это во многом объясняется нарушением дренажной функции лимфатических сосудов, поскольку основным фактором лимфооттока является спонтанная сократительная способность лимфангионов, которые являются структурно-функциональной единицей лимфатической системы [3], а на фоне продолжающихся процессов склерозирования в тканях из-за высокой микробной обсеменённости и выделения ими огромного количества продуктов жизнедеятельности данная функция значительно редуцируется. В последние годы обнаружены антибиотикорезистентные штаммы стрептококков, а при часто рецидивирующих формах заболевания отдалённые результаты пенициллинотерапии значительно ухудшаются [4].

В настоящее время всеми клиницистами бесспорно признается, что повышение эффективности лечения данной категории больных возможно лишь при полной элиминации микробных агентов из мягких тканей конечности, для чего требуется применение новых подходов. Определённые перспективы открываются при применении фотодинамической терапии, которая обладает вы-

Ответственный за ведение переписки -
Мельников Михаил Александрович:
Самара, пр. Карла Маркса, 165 «Б»
Тел. (846) 264 82 56; факс (846) 264 82 56;
сот. (846) 221 69 90

раженным антимикробным действием. Однако, единичность исследования, отсутствие многофакторного анализа отдаленных результатов не позволяет окончательно судить об эффективности нового метода лечения. Это привело к необходимости проведения данного исследования.

Цель исследования - улучшение результатов лечения больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления путем применения эндолимфатической фотодинамической терапии.

Задачи исследования

1. Разработать методику эндолимфатической фотодинамической терапии у больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления.
2. Изучить состояние лимфатического и венозного оттока у больных вторичным лимфостазом нижних конечностей до и после проведения эндолимфатической фотодинамической терапии.
3. Оценить морфологическое состояние кожи и подкожной клетчатки пораженной конечности при различных вариантах лечения.
4. Определить эффективность комплексного лечения больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления с применением эндолимфатической фотодинамической терапии.

Материалы и методы

Во флебологическом центре клиники госпитальной хирургии Самарского государственного медицинского университета за период с 2003 по 2008 год проводилось изучение состояния периферического лимфооттока у 120 пациентов с вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления. Изучены возможные пути коррекции лимфатического оттока у данной группы больных.

Все больные были с III степенью лимфатического отека (классификация Жукова Б.Н., Борнсова В.К., 1976 г.).

Наибольшее число пациентов было в возрасте от 31 до 50 лет, то есть трудоспособного возраста. Данное соотношение представлено в таблице 1.

При распределении больных по полу и возрасту в основном преобладали женщины в возрасте от 31 до 50 лет. Наибольшую группу составили больные вторич-

ным лимфостазом нижних конечностей после эритематозных форм рожистых воспалений – 82 (68,3%) человека. У большинства больных процесс локализовался на левой нижней конечности 87 (72,5%) человек.

Все обследованные нами пациенты были разделены на две группы. В контрольную группу вошли 60 пациентов с вторичным лимфостазом нижних конечностей, получавшие стандартную консервативную терапию. В основную группу вошли 60 пациентов с вторичным лимфостазом нижних конечностей, получающих наряду со стандартным консервативным лечением эндолимфатическую фотодинамическую терапию.

В качестве объективных критериев для определения функциональных изменений периферического лимфооттока всем больным были проведены следующие методы обследования: линейные измерения нижних конечностей на уровне стопы, нижней трети голени, средней трети голени, средней трети бедра; фотопигментометрическая проба с лимфотропным красителем (метиленовый синий) с определением коэффициента поглощения света кожей с помощью фоторезистора (ФИАН, Самара); исследование микроциркуляции лазерным биофотометром «Линсор» (ФИАН, Самара). Достоверным критерием элиминации микробных агентов из лимфатического русла конечности являлись гистологические препараты мягких тканей (окраска: гематоксилин и эозин, микрофуксин по Ван Гизон; микроскоп – Zeiss «Axiostar plus», Швейцария), взятых интраоперационно у 30 пациентов.

Для статистической обработки результатов применялись параметрические (критерий t – Стьюдента) и непараметрические методы (χ^2). Применен пакет прикладных программ Statistica 6.0 для Microsoft office. Различия считали статистически значимыми при вероятности безошибочного прогноза 95% и более ($p < 0,05$).

Больные вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления получали стандартную консервативную терапию, включающую: лимфотонические препараты; средства, улучшающие реологические свойства крови и лимфы; осмотические диуретики; нестероидные противовоспалительные препараты; антибактериальную терапию. Из физических методов воздействия использовались: лазеротерапия, магнитотера-

Таблица 1. Распределение больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления по полу и возрасту

Пол	Возраст в годах							Всего
	До 20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	> 70	
Мужчины	--	6	10	12	9	6	6	49
Женщины	6	11	12	21	8	7	6	71
Всего	6	17	22	33	17	13	12	120
%	5	14,2	18,3	27,5	14,2	10,8	10	100

ния, пневмостимуляция. Пациенты с частыми рожистыми воспалениями (более 3 в год) получали ультрафиолетовое облучение аутокрови.

Эндолимфатическая фотодинамическая терапия основана на способности фотосенсибилизатора накапливаться в измененных тканях и микробных клетках с реализацией эффекта летальной фотосенсибилизации бактерий. Механизм действия представляется следующим образом: на первом этапе молекула фотосенсибилизатора, поглотив квант света, переходит в возбужденное триплетное состояние и вступает в фотохимические реакции двух типов. При первом типе реакций происходит взаимодействие непосредственно с молекулами биологического субстрата, что в конечном итоге приводит к образованию свободных радикалов. Во втором типе реакций происходит взаимодействие возбужденного фотосенсибилизатора с молекулой кислорода с образованием синглетного кислорода, который является цитотоксическим для живых клеток, благодаря своему свойству сильного окислителя биомолекул. В своей работе мы использовали фотосенсибилизатор «ФОТОДИТАЗИН» и лазерное излучение (полупроводниковый лазерный аппарат «КРИСТАЛЛ-М», длина волны-660 нм, мощность до 3 Вт). Методика лечения осуществлялась следующим образом: фотосенсибилизатор вводится в лимфатический сосуд на тыле стопы в I межпальцевом промежутке при помощи дозатора лекарственных веществ на протяжении 1-1,5 часов. Затем эндолимфатически с помощью сконструированного адаптера и поверхностно на зоны максимального накопления фотосенса воздействовали лазерным излучением с помощью аппарата «Кристалл-М». Мощность излучения варьировала от 0,2 Вт при эндолимфатическом воздействии до 3 Вт при поверхностном, с экспозицией от 3 до 15 минут. По данной методике лечения в 2006 году получен Патент РФ «Способ лечения хронической лимфатической недостаточности».

Результаты и обсуждение

При обработке полученных данных в основной группе произошли следующие изменения. По данным фотопигментометрии наблюдалось более четкое окрашивание отводящих лимфососудов, уменьшалась диффузия красителя в тканях и скорость рассасывания пигментного пятна увеличивалась в среднем на 15-20% по сравнению с исходными значениями. При обработке данных линейных характеристик было зафиксировано уменьшение асимметрии по всем уровням измерений от 2,5 до 4,0 см. При исследовании состояния лимфатических сосудов на лазерном биофотометре «Линсор» отмечаются скачки амплитуды сокращения лимфатических сосудов от 0,15 до 1,4 отн. ед. в разных частотных характеристиках. Отмечается выравнивание амплитуды сокращения лимфатических сосудов нижней конечности и в разных частотных характеристиках она составляет от 0,6 до 0,2 отн. ед. Особенно интересными были результаты гистологических исследований до и после проведенного лечения. На срезах кожи и подкожной клетчатки отмечались скопления L-форм стрептококков, которые располагались в

виде змеек и округлых образований по ходу деформированных лимфатических сосудов. Наблюдалась массивная лимфогистиоцитарная инфильтрация - количество лимфоцитов достигало 35 - 50 в поле зрения, количество гистиоцитов - 23 - 30 в поле зрения. Находились эти клетки в основном вокруг мелких сосудов (венулы, лимфатические сосуды, капилляры). В стенке сосудов были явные признаки склероза. Визуализировались переполненные лимфой сосуды, выявлялось скопление лимфы в межклеточном пространстве. Также были обнаружены L-формы стрептококков, образующие конгломераты, «змейки», цепочки. В поле зрения их количество достигало 35 - 46. У больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рецидивирующих рожистых воспалений после проведенного консервативного курса лечения с применением эндолимфатической фотодинамической терапии гистологическая картина выглядела следующим образом: изменения произошедшие в эпидермальном слое кожи и дерме сохранялись, в подкожной клетчатке визуализировались процессы построения эластических волокон, количество лимфоцитов достигало 12 - 15 клеток в поле зрения, количество гистиоцитов - 4 - 8 клеток в поле зрения. Стрептококки сохранялись в виде округлых образований по 2 - 4 в поле зрения, а в 4 препаратах они обнаружены не были. Лимфатические сосуды принимали ещё меньший диаметр, уменьшалось скопление лимфы в межклеточном пространстве.

В контрольной группе по данным фотопигментометрии наблюдалось менее четкое окрашивание отводящих лимфососудов, уменьшалась диффузия красителя в тканях и скорость рассасывания пигментного пятна увеличивалась в среднем на 5-10% по сравнению с исходными значениями. При обработке данных линейных характеристик было зафиксировано уменьшение асимметрии конечности по всем уровням измерений от 0,7 до 1,5 см. Отмечается выравнивание амплитуды сокращения лимфатических сосудов нижней конечности и в разных частотных характеристиках она составляет от 0,9 до 1,2 отн. ед. Гистологические изменения произошедшие в эпидермальном слое кожи и дерме сохранялись, количество лимфоцитов достигало 32 - 45 клеток в поле зрения, количество гистиоцитов - 14 - 18 клеток в поле зрения. Сохранялись скопления стрептококков в виде раздельных цепочек и спиралей 18 - 25 в поле зрения.

Данные по измерению длины окружности приведены в таблице 2.

Для оценки эффективности лечения больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления с точки зрения доказательной медицины проводилась оценка достоверности теста (индекс точности исследования) и исходов лечения (отношение шансов желательного к нежелательному исходу). Критериями, характеризующими хороший непосредственный результат, были отсутствие рожистого воспаления в периоде наблюдения; отсутствие прогрессирования отёка. Критериями неудовлетворительных непосредственных результатов были: рожистое воспаление в периоде наблюдения; увеличение длины окружности более чем на 1

Таблица 2. Длина окружности нижних конечностей

Группа больных	Длина окружности (см) до лечения				Длина окружности (см) после лечения			
	Стопа	Нижняя треть голени	Средняя треть голени	Средняя треть бедра	Стопа	Нижняя треть голени	Средняя треть голени	Средняя треть бедра
Основная группа	28,6*	35,4*	40,2*	63,4*	24,2*	31,2*	36,2*	61,6*
	±	±	±	±	=	±	±	±
	0,2	0,12	0,15	0,2	0,19	0,21	0,24	0,28
Контрольная группа	27,4*	36,1*	39,6*	64,8*	26,8*	34,2*	37,8*	63,9*
	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,2	0,14	0,12	0,25	0,21	0,27	0,3	0,31

Примечание: * - t – критерий Стьюдента > 2

Таблица 3. Оценка эффективности лечения больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления

Результаты лечения	Основная группа	Контрольная группа
Хороший	53 (88%)	16 (27%)
Неудовлетворительный	7 (12%)	44 (73%)

Таблица 4. Оценка эффективности лечения больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления

Результаты лечения	Основная группа	Контрольная группа
Хороший	46 (82%)	10 (19%)
Неудовлетворительный	10 (18%)	42 (81%)

см. Данные расчёты приведены в таблице 3.

Непосредственные результаты лечения оценены с позиций доказательной медицины.

Индекс точности = 81 %

Частота неблагоприятных исходов в основной группе = 27 %

Частота неблагоприятных исходов в контрольной группе = 88%

Относительный риск = 3,3

Снижение абсолютного риска = 61 %

Снижение относительного риска = 69 %

Отношение шансов = 2,8

Критериями, характеризующими хороший отдалённый результат, были отсутствие рожистого воспаления в периоде наблюдения или одно рожистое воспаление; увеличение длины окружности в период наблюдения более чем на 1 см. Критериями неудовлетворительных отдалённых

результатов были: частые рожистые воспаления (более одного), увеличение длины окружности более чем на 3 см. Данные расчёты приведены в таблице 4.

Отдалённые результаты лечения оценены с позиций доказательной медицины.

Индекс точности = 82 %

Частота неблагоприятных исходов в контрольной группе = 82 %

Частота неблагоприятных исходов в основной группе = 19 %

Относительный риск = 4,3

Снижение абсолютного риска = 63 %

Снижение относительного риска = 76 %

Отношение шансов = 1,3

Таким образом, в результате внедрения разработанной методики эндолимфатической фотодинамической терапии нам удалось добиться улучшения непосредственных

ных и отдаленных результатов лечения больных с вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления.

Заключение

1. Разработанная методика эндолимфатической фотодинамической терапии у больных вторичным лимфостазом нижних конечностей на фоне рожистого воспаления предназначена для воздействия на микробные клетки. Она заключается в эндолимфатическом введении фотосенсибилизатора «Фотодитазина» с последующим транскутанным воздействием лазерного излучения на зону накопления фотосенсибилизатора.

2. При проведении эндолимфатической фотодинамической терапии отмечено восстановление периферического лимфатического и венозного оттока. Амплитуда сокращения сосудов микроциркуляторного русла выравнивается и составляет от 0,6 до 0,2 отн. ед. по сравнению со стандартной терапией (от 0,5 до 1,2 отн. ед.). Улучшение венозного оттока проявляется снижением показате-

ля затруднения венозного оттока, нормализацией значения пресистолической венозной волны, снижением индекса Симона.

3. Эндолимфатическая фотодинамическая терапия сопровождается положительной динамикой гистологической картины мягких тканей пораженной конечности: уменьшением лимфогистиоцитарной инфильтрации, начинающимся процессом построения эластических волокон, уменьшением обсемененности стрептококками вплоть до их полного исчезновения.

4. Ближайшие и отдаленные результаты лечения, изученные с позиций доказательной медицины, свидетельствуют об эффективности предложенной методики эндолимфатической фотодинамической терапии. Число хороших ближайших результатов увеличилось с 27 % до 88 %, а число неудовлетворительных результатов снизилось с 73 % до 12 % (снижение относительного риска 69 %). В отдаленные сроки число хороших результатов увеличилось с 19 % до 82 %, число неудовлетворительных результатов уменьшилось с 81 % до 18 %. ■

Литература:

1. Бубнова Н.А., Кноринг Г.Ю., Шатиль М.А., Пакляна К.А., Абраменко Е.А., Супрун К.С. Системная энзимотерапия в комплексном лечении рожистого воспаления у больных с сопутствующими лимфовенозными заболеваниями. Тезисы докладов II съезда лимфологов России.- Санкт-Петербург, 2005.- С.46-47.
2. Жуков Б.Н., Каторюян В.Е., Яровенко Г.В. Использование лазеротерапии в предоперационной подготовке у больных хронической лимфо-венозной недостаточностью нижних конечностей. Материалы международной научно-практической конференции «Лазерные техноло-
- гии в медицинской науке и практическом здравоохранении».- Москва, 2004, С. 20.
3. Покровский А.В., Савченко Т.В., Сапелькин С.В. Хирургическое лечение лимфедемы на современном этапе в свете анализа отдаленных результатов конечностей. Тезисы докладов II съезда лимфологов России.- Санкт-Петербург, 2005, С.233-235.
4. Фионик О.В., Семенов А.Ю., Бубнова Н.А., Петров В.С. Стандарты в лечении лимфедемы нижних конечностей. Тезисы докладов II съезда лимфологов России.- Санкт-Петербург, 2005, С.324-325.