

О. В. Кравцов,
О. М. Клімова,
Л. А. Дроздова

ДУ «Інститут загальної
та невідкладної хірургії
ім. В. Т. Зайцева НАМНУ»,
м. Харків

© Колектив авторів

ДИНАМІКА ЗМІН ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ТА МІСЦЕВОМУ ЛІКУВАННІ ДЕФЕКТІВ М'ЯКИХ ТКАНИН ПРИ МІННО-ВИБУХОВІЙ ТРАВМІ

Реферат. Метою роботи є встановлення динаміки змін імунологічних показників при хірургічному та місцевому лікуванні дефектів м'яких тканин при мінно-вибуховій травмі.

Матеріали та методи. Клінічну групу становили 16 поранених з вогнепальними та мінно-вибуховими пораненнями з ушкодженням шкірного покриву та м'яких тканин різної локалізації, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України». У пацієнтів з рановими дефектами м'яких тканин внаслідок вибухової травми досліджували функціональну активність показників гуморальної та клітинної ланок вродженого та адаптивного імунітету на тлі проведеного лікування спрямованого на відновлення шкірного покриву.

Результати досліджень. При місцевому та хірургічному лікуванні пацієнтів рановими дефектами після відновлення шкірного покриву спостерігали зниження концентрації С3-компоненту комплементу у пацієнтів. Визначено активацію нейтрофілів в кисненезалежному фагоцитозі, про що свідчило підвищення фагоцитарного індексу та фагоцитарного числа у всі строки обстеження пацієнтів з дефектами шкірного покриву. У всіх пацієнтів з травмами на момент 1 обстеження виявили значне зниження лімфоцитів, що несуть маркер ранньої активації CD3+CD4+CD25+. В подальшому, на момент 2 обстеження після відновлення шкірного покриву спостерігали підвищення даного показника до референтних значень. Відсоток приживлення шкірних клаптів після вільної пластики склав 94 %.

Висновки. Таким чином, у пацієнтів з дефектами м'яких тканин при мінно-вибуховій травмі на момент 1 обстеження спостерігали виражений імунозапальний процес, який проявлявся у підвищенні показників гуморальної та клітинної ланок вродженого імунітету: підвищення С3-компоненту комплементу та збільшення кількості фагоцитуючих нейтрофільних гранулоцитів, що потребувало спрямованої імунокорекції, з метою очищення рани і покращення регенеративних процесів.

У постраждалих спостерігали виражений дисбаланс регуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів CD3+CD4+CD25+, CD3+HLA-DR+ та CD3+CD4+CD28+ на момент 1 обстеження, що свідчить про імунологічну недостатність клітинної ланки адаптивного імунітету з подальшою активацією цих показників. В процесі лікування позитивно підвищувався рівень маркерів ранньої активації та знижувався маркер пізньої активації Т-лімфоцитів, що можна розглядати як ефект імунокорекції проведеного лікування.

Місцеве та оперативне лікування ранових дефектів м'яких тканин спрямоване на відновлення шкірного покриву в оптимальні терміни сприяло нормалізації показників неспецифічної резистентності, гуморального імунітету і цитокінового спектру.

Ключові слова: рани, лікування, імунна відповідь, порушення метаболізму.



Вступ

Під час повномасштабної війни в Україні збільшились кількість поранених із мінно-вибуховими травмами, як серед військовослужбовців, так і серед цивільних. Пошкодження від вибухової травми характеризуються впливом комбінаційних різних вражаючих факторів вибуху мінних боєприпасів на організм людини. Фактори ураження на людину під час мінно-вибухової травми наступні, це і ударна хвиля, механотрава (травми через удари об різні предмети які знаходяться поруч), висока температура, полум'я, баротрава, акустична травма, токсична дія газоподібних продуктів вибуху [1].

Організація хірургічної діяльності у тому вигляді, в якому вона існувала, не могла забезпечити потреби у медичній допомозі постраждалим від військових дій. Змін зазнала не лише організація ургентної хірургічної допомоги, але й планова хірургічна діяльність. І одне з перших місць посіла аутодермопластика. Адже це планове утручання, що представляє собою наступний етап лікування після попередньо виконаної ургентної хірургічної корекції. Ці втручання – безперечно шанс для постраждалих із великими за площею пораненнями м'яких тканин (і не тільки, як показав досвід) повернути собі якість життя, як до отримання бойової травми [2].

Бойова хірургічна травма кінцівок і тулуба, що супроводжується утворенням дефектів м'яких тканин становить 34,6–40,1 % санітарних втрат хірургічного профілю. А отже, питання лікування таких поранених залишається одним з найважливіших у сучасній військовій хірургії. Їх вирішення дозволить скоротити час лікування, значно покращити функціональні результати, прискорити терміни повернення до строю, зменшити відсоток інвалідизації [3].

Ушкодження шкірного покриву призводить до масивної мікробної інвазії, а рановий ексудат є ідеальним середовищем для розвитку мікроорганізмів. Порушення мікроциркуляції призводять до утруднення надходження в рану фагоцитів, антитіл, кисню, знижується хемотаксис і фагоцитарна активність макрофагів і нейтрофілів рани, зменшується споживання нейтрофільними лейкоцитами кисню, в організмі знижується вироблення гуморальних факторів неспецифічної резистентності. Значно страждає імунна система. Все це сприяє розвитку ранової інфекції і генералізації інфекційного процесу [4].

Щоб запобігти проникненню та поширенню патогених бактерій, в організмі існує два типи імунної відповіді: вроджений імунітет, або природний та набутий імунітет, або специфічний. Перший відповідає за початкові реакції на будь-яку інфекцію та запускає реакцію лімфо-

цитів та гуморальних її продуктів, які є компонентами набутого імунітету, забезпечуючи специфічну та стійку пізню відповідь [5].

Сприятливий результат ранового процесу великою мірою залежить від стану системи неспецифічного захисту та імунної реактивності організму. У зв'язку з цим визначення стану різних ланок імунітету має важливе практичне значення, оскільки дозволяє прогнозувати перебіг ранового процесу, ризик розвитку інфекційних ускладнень, а також оцінити ефективність лікування, що проводиться.

Мета роботи

Встановлення динаміки змін імунологічних показників при хірургічному та місцевому лікуванні дефектів м'яких тканин при мінно-вибуховій травмі.

Матеріали та методи дослідження

Клінічну групу становили 16 поранених з вогнепальними та мінно-вибуховими пораненнями з ушкодженням шкірного покриву та м'яких тканин різної локалізації, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії ім. В.Т. Зайцева НАМН України». Всі поранені були чоловіками, військовослужбовцями ЗСУ. Вік пацієнтів коливався від 26 до 54 років. Терміни госпіталізації до нашого інституту складали від 1 до 3 діб з моменту отримання травми.

Серед госпіталізованих пацієнтів з бойовою травмою найчастіше спостерігались множинні ушкодження м'яких тканин (80,4% випадків), в тому числі поєднані (19,6%). Пошкодження нижніх кінцівок визначались у 56,2% випадків (9 постраждалих), верхніх кінцівок – у 31,2% (5 пацієнтів), тулуба – у 12,6% (2 пацієнта). Площа ранових дефектів становила від 30 см² до 700 см² (в середньому 320 см²).

На всіх етапах виконувалися перев'язки та діагностичні дослідження з використанням сучасних атравматичних ранових покриттів, які були спрямовані на очищення ран від гнійно-некротичних тканин та підготовку ранового ложа до аутодермопластики. Оптимальним сприймаючим ложем для виконання аутодермопластики вважали появу дрібно та крупнозернистих рожевих, грануляцій (рис. 1).

При виконанні вільної аутодермопластики використовували дерматоми Українського виробника, які дозволяли взяття аутогрануляцій заданої товщини 0,2 – 0,3 мм. з наступною перфорацією скальпелем для дренажної функції. Важливим етапом у післяопераційному періоді є зрошення ран з пересадженими аутодермотрансплантатами перші 3 доби розчином, що включає гормони, антибіотики. Це дозволяло створити вологе середовище на вільні шкірні



Рис. 1. Рановий дефект м'яких тканин правої верхньої кінцівки внаслідок мінно-вибухової травми та проведеного місцевого лікування



Рис. 2. Відновлений шкірний покрив внаслідок мінно-вибухової травми

клапті. Таким чином відбувалося запобігання висихання, інфікування й запалення, як ранової основи, так і шкірних аутодермотрансплантатів (рис. 2).

У всіх постраждалих досліджували функціональну активність показників гуморальної та клітинної ланок вродженого та адаптивного імунітету при надходженні до клініки 1 спостереження та 3 добу після оперативного втручання спрямованого на відновлення шкірного покриву 2 спостереження. Терміни підготовки ранового ложа до аутодермопластики залежали від очищення рани від залишків некротичних тканин та формування повноцінної грануляційної тканини.

Визначення вмісту С3 та С4 компонентів комплементу проводили імунотурбодіметричним методом. При взаємодії білка зі специфічними антитілами утворювались імунокомплекси, преципітація яких призводила до збільшення оптичної щільності розчину, яку вимірювали за довжини хвилі $\lambda = 340$ нм, що була пропорційною концентрації компонентів комплементу С3 і С4 у зразку.

Фагоцитарну активність гранулоцитарних нейтрофілів визначали у лейкоцитарній суспензії, отриманій з гепаринізованої крові. Для дослідження змішували рівні обсяги лейкоцитарної суспензії та відмитої суспензії штаму дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. Отримані зразки інкубували 30 хвилин та 120 хвилин при 37°C , періодично помішуючи. Після інкубації готували мазки, які забарвлювали барвником Романовського-Гімза. Мікроскопію проводили під імерсійною системою. Шляхом підрахунку відсотка клітин, які вступили до фагоцитоза, розраховували фагоцитарний індекс. Середня кількість дріжджових клітин, що знаходяться

в нейтрофілах крові, становила фагоцитарне число: $\text{ФЧ} = N_{\text{др.}}/N_{\text{фаг.}}$, де $N_{\text{ін}}$ — кількість поглинених дріжджових клітин; $N_{\text{фаг.}}$ — кількість клітин, що вступили у фагоцитоз. Індекс завершеності фагоцитозу (ІЗФ) — здатність нейтрофілів перетравлювати антиген.

Стан кисневозалежного механізму бактеріцидності нейтрофільних гранулоцитів крові *in vitro* оцінювали за спонтанним тестом із нітросинім тетразолиєм (НСТ) (світлова мікроскопія, Olympus VX53, збільшення $\times 1000$). Враховували ступінь відновлення поглиненого фагоцитом розчинного барвника НСТ у нерозчинний диформазан під впливом супероксиданіону (призначений для внутрішньоклітинного знищення інфекційного агенту після його поглинання), що утворюється в НАДФ-Н-оксидазній реакції.

Оцінку експресії кластерів CD3+CD4+CD25+ та CD3+HLA-DR+ на лімфоцитах проводили методом проточної цитофлуориметрії (CytomicsFC500, BeckmanCoulter, США) з використанням відповідних моноклональних антитіл та барвників FITC, PE, PC5. Для видалення еритроцитів використовували лізуючий розчин OptiLyse C (Beckman Coulter, США).

У пацієнтів з рановими дефектами м'яких тканин внаслідок вибухової травми досліджували функціональну активність показників гуморальної та клітинної ланок вродженого та адаптивного імунітету.

Результати досліджень та їх обговорення

Оцінка гуморальної ланки вродженого імунітету показала значне підвищення С3-компоненту комплементу у пацієнтів з травмами до $(1,9 \pm 0,3)$ г/л на момент першого обстеження у порівнянні з референтними значеннями — $(1,1 \pm 0,1)$ г/л, що характеризує гостроту за-



пального процесу. При дослідженні в динаміці спостерігали деяке зниження концентрації цього показника до $(1,7 \pm 0,2)$ г/л. Активація цього фактору підтримує фагоцитоз і є важливою ланкою захисту від інфекції. В той же час концентрація С4-компоненту комплементу не відрізнялась від референтних значень і складала $(0,27 \pm 0,11)$ г/л та $(0,26 \pm 0,1)$ г/л в різні строки обстеження, при референтних значення $(0,25 \pm 0,05)$ г/л (рис. 3).

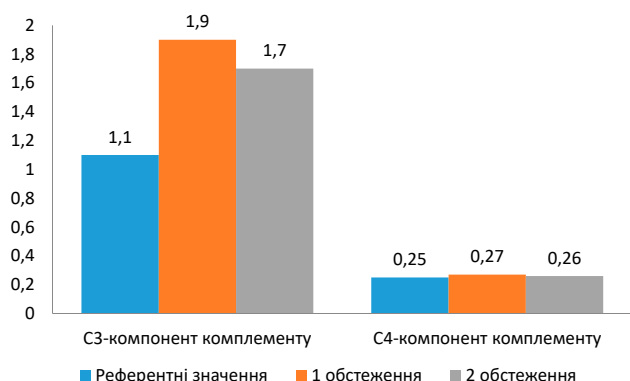


Рис. 3 Рівень С3- і С4-компонентів комплементу у пацієнтів з вибуховою травмою

Визначено активацію нейтрофілів в киснево-незалежному фагоцитозі, про що свідчило підвищення фагоцитарного індексу та фагоцитарного числа у всі строки обстеження пацієнтів з травмами (табл.1).

При вивченні бактерицидної активності нейтрофільних гранулоцитів було виявлено підвищення спонтанного тесту з НСТ у пацієнтів з травмами на момент першого обстежен-

ня до $(23,1 \pm 5,4)\%$ при референтних значення $(10,1 \pm 1,1)\%$. Це свідчить про антигенне подразнення та посилення антитілозалежної цитотоксичності фагоцитів (табл. 1).

У пацієнтів з травмами на момент 1 обстеження виявили значне зниження лімфоцитів, що несуть маркер ранньої активації CD3+CD4+CD25+. Низький рівень даного показника відображає здатність лімфоцитів до проліферації та диференціровки і характеризує функціональний стан активованих Т-лімфоцитів, зниження яких у обстежених пацієнтів свідчить про імунологічну недостатність клітинної ланки імунітету (рис. 4). В подальшому, на момент 2 обстеження спостерігали підвищення даного показника до референтних значень. При цьому спостерігалось чотирикратне підвищення Т-лімфоцитів, що несуть маркер пізньої активації CD3+HLA-DR+.

Виявили зниження експресії коstimулюючих молекул CD3+CD4+CD28+ Т-хелперів на момент першого дослідження до $(43,0 \pm 3,5)\%$ у порівнянні з референтними значеннями, що може свідчити про порушення формування ефективного клітинного імунітету (рис. 5). У подальшому спостерігали нормалізацію даного показника – підвищення до $(60,5 \pm 4,1)\%$.

Важливим для оцінки ефективності лікування ранових дефектів м'яких тканин є відсоток приживлення шкірних клаптів в результаті операції аутодермопластики. В основній групі він склав 94 % поверхні тіла, що визначає поліпшення зазначених показників клінічного лікування пацієнтів.

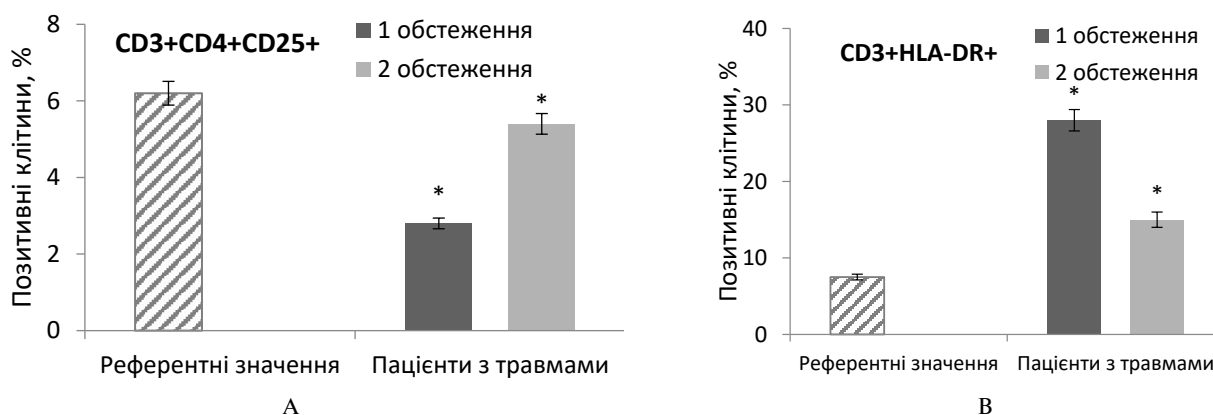


Рис. 4. Експресія маркерів ранньої активації лімфоцитів CD3+CD4+CD25+ (А) та пізньої активації лімфоцитів CD3+HLA-DR+ (В) у пацієнтів з вибуховою травмою (* p < 0,05)

Таблиця 1

Фагоцитарна та бактерицидна активність нейтрофілів у пацієнтів з вибуховою травмою

Хірургічна патологія	Фагоцитарна активність нейтрофілів			НСТ-тест		
	ФІ, %	ФЧ	ІЗФ, %	СП, %	СТ, %	ІС
Референтні значення	76,1±2,1	3,1±0,1	1,15±0,03	10,1±1,1	65,2±3,1	7,1±0,8
1 обстеження	85,2±8,0	3,6±0,1	1,1±0,2	23,1±5,4	53,3±19,0	3,0±0,4
2 обстеження	85,1±7,8	3,7±0,2	1,1±0,2	16,0±6,6	50,8±16,6	3,4±0,4

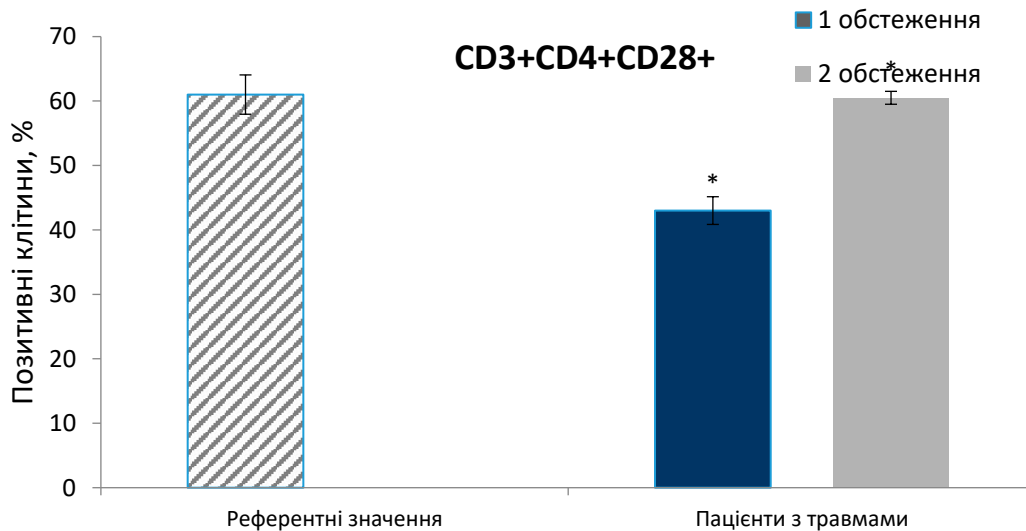


Рис. 5. Рівень експресії коstimулюючих молекул CD3+CD4+CD28+Т-хелперів

Висновки

Таким чином, у пацієнтів з дефектами м'яких тканин при мінно-вибуховій травмі на момент 1 обстеження спостерігали виражений імунзапальний процес, який проявлявся у підвищенні показників гуморальної та клітинної ланок вродженого імунітету: підвищення С3-компоненту комплементу та збільшення кількості фагоцитуючих нейтрофільних гранулоцитів, що потребувало спрямованої імюнокорекції, з метою очищення рани і покращення регенеративних процесів.

У постраждалих спостерігали виражений дисбаланс регуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів CD3+CD4+CD25+, CD3+HLA-DR+ та CD3+CD4+CD28+ на момент 1 обстеження, що свідчить про імюнологічну недостат-

ність клітинної ланки адаптивного імунітету з подальшою активацією цих показників. У процесі лікування позитивно підвищувався рівень маркерів ранньої активації та знижувався маркер пізньої активації Т-лімфоцитів, що можна розглядати як ефект імюнокорекції проведеного лікування.

Місцеве та оперативне лікування ранових дефектів м'яких тканин спрямоване на відновлення шкірного покриву в оптимальні терміни сприяло нормалізації показників неспецифічної резистентності, гуморального імунітету і цитокінового спектру.

Таким чином, можливо запропонувати спосіб оцінки результатів приживлення вільних аутодермотрансплантатів за спрямованістю динаміки змін імюнологічних показників в процесі лікування.

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Чорна ВВ, Заводяк АЮ, Івашкевич ЄМ, та ін. Тяжкість ушкоджень при мінно-вибуховій травмі залежно від місцезнаходження особи на момент вибуху. Український журнал військової медицини. 2023;4(3):70-7. DOI: 10.46847/ujmm.2023.3(4)-070
2. Пархоменко КЮ, Дроздова АГ, Прокопенко КА, Паюнов КЄ. Місце аутодермопластики у хірургії мінно-вибухових поранень: Шалімовські дні. Хірургія у війні – актуальні питання надання хірургічної допомоги у військовий час. Клінічна хірургія. 2022;89(11-12):79-80.
3. Компанієць А. О. Вакуумні пов'язки в хірургічному лікуванні поранених з дефектами м'яких тканин при бойовій травмі [автореферат дисертації]. Київ: Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика; 2019. 22 с.
4. Ковальчук АО. Дослідження впливу раннього хірургічного лікування з використанням гідрогелевих регенеративних засобів та губчастих сорбуючих матеріалів на показники мікробного обсіменіння ран. Інфекційні хвороби. 2015;2:59-64.
5. Noronha SA, Noronha SM, Lanziani LE, Ferreira LM, Gragnani A. Innate and adaptive immunity gene expression of human keratinocytes cultured of severe burn injury. Acta cirurgica brasileira. 2014;3:60-7. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502014001700012>



REFERENCES

1. Chorna VV, Zavodiak AIu, Ivashkevych YeM, ta in. Tiazhkist ushkodzen pry minno-vybukhovii travmi zalezno vid mistseznakhodzhennia osoby na moment vybukhu. Ukrainskyi zhurnal viiskovoi medytsyny. 2023;4(3):70-7. DOI: 10.46847/ujmm.2023.3(4)-070 [In Ukr.]
2. Parkhomenko KIu, Drozdova AH, Prokopenko K, Paiunov KIE. Mistse autodermoplastyky u khirurhii minno-vybukhoviykh poranen: Shalimovski dni. Khirurhiia u viini – aktualni pytannia nadannia khirurhichnoi dopomohy u viiskovyi chas. Klinichna khirurhiia. 2022;89 (11-12):79-80 [In Ukr.]
3. Kompaniets AO. Vakuumni poviazky v khirurhichnomu likuvanni poranenykh z defektamy miakykh tkanyn pry boiovii travmi [avtoreferat dysertatsii]. Kyiv: Natsionalna medychna akademiia pisladyplomnoi osvity imeni PL. Shupyka; 2019. 22 s. [In Ukr.]
4. Kovalchuk AO. Doslidzhennia vplyvu rannoho khirurhichnogo likuvannia z vykorystanniam hidrohelevykh reheneratyvnykh zasobiv ta hubchastykh sorbuiuchykh materialiv na pokaznyky mikrobnogo obsimeninnia ran. Infektsiini khvoroby. 2015; 2: 59-64 [In Ukr.]
5. Noronha SA, Noronha SM, Lanziani LE, Ferreira LM, Gragnani A. Innate and adaptive immunity gene expression of human keratinocytes cultured of severe burn injury. Acta cirurgica brasileira. 2014;29(3):60-7. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502014001700012> [In Eng.].

**DYNAMICS OF CHANGES
IN IMMUNOLOGICAL
INDICATORS DURING
SURGICAL AND LOCAL
TREATMENT OF SOFT
TISSUE DEFECTS
IN MINE-BLAST INJURY**

**O. V. Kravtsov, E. M. Klimova,
L. A. Drozdova**

Abstract. *The purpose of the work* is to establish the dynamics of changes in immunological indicators during surgical and local treatment of soft tissue defects in mine-explosive trauma.

Materials and methods. The clinical group consisted of 16 wounded people with gunshot and mine-explosive wounds with damage to the skin and soft tissues of various localizations, who were undergoing in-patient treatment at the SI 'Zaitsev V.T. Institute of general and urgent surgery of NAMS of Ukraine'. In patients with wound defects of soft tissues due to explosive trauma, the functional activity of indicators of humoral and cellular links of innate and adaptive immunity was studied against the background of the treatment aimed at restoring the skin.

Research results. During the local and surgical treatment of patients with wound defects after restoration of the skin, a decrease in the concentration of the C3 component of complement was observed in patients. The activation of neutrophils in oxygen-dependent phagocytosis was determined, which was evidenced by an increase in the phagocytic index and phagocytic number during all periods of examination of patients with skin defects. All patients with injuries at the time of 1 examination revealed a significant decrease in lymphocytes carrying the early activation marker CD3+CD4+CD25+. Later, at the time of the 2nd examination after the restoration of the skin, an increase of this indicator to the reference values was observed. The percentage of engraftment of skin flaps after free plastic surgery was 94%.

Conclusions. Thus, at the time of the 1st examination, a pronounced immunoinflammatory process was observed in patients with soft tissue defects due to a mine-explosive injury, which was manifested in an increase in the indicators of the humoral and cellular links of innate immunity: an increase in the C3 component of complement and an increase in the number of phagocytizing neutrophil granulocytes, which required targeted immunocorrection in order to clean the wound and improve regenerative processes.

In the victims, a pronounced imbalance of regulatory T-lymphocyte subpopulations CD3+CD4+CD25+, CD3+HLA-DR+ and CD3+CD4+CD28+ was observed at the time of the 1st examination, which indicates immunological insufficiency of the cellular link of adaptive immunity with subsequent activation of these indicators. In the process of treatment, the level of markers of early activation positively increased and the marker of late activation of T-lymphocytes decreased, which can be considered as an effect of immunocorrection of the treatment.

Local and operative treatment of wound defects of soft tissues aimed at restoring the skin in optimal terms contributed to the normalization of indicators of non-specific resistance, humoral immunity and cytokine spectrum.

Keywords: *wounds, treatment, immune response, metabolic disorders.*