

ВИЗНАЧЕННЯ ДИНАМІКИ ПОКАЗНИКІВ АДАПТИВНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ ЛІКУВАННІ ТЯЖКООБПЕЧЕНИХ

Проф. О. М. КЛІМОВА¹, д-р мед. наук О. В. КРАВЦОВ¹, канд. біолог. наук Л. А. ДРОЗДОВА¹, канд. мед. наук Т. А. КУРБАНОВ¹, А. О. ГОПКО²

¹ ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України», Харків,
² КНП «Міська клінічна лікарня швидкої та невідкладної медичної допомоги імені проф. О. І. Мещанінова» ХМР, Харків, Україна

Простежено зміну показників клітинної і гуморальної ланок імунної відповіді та продуктів метаболізму у тяжкообпечених. Виявлено функціональну недостатність нейтрофільної ланки, порушення співвідношення субпопуляцій CD4⁺-лімфоцитів та цитотоксичних лімфоцитів CD8⁺, низький рівень церулоплазміну, високу концентрацію циркулюючих імунних комплексів фракцій молекул із середньою молекулярною масою.

Ключові слова: опіки, імунна відповідь, порушення метаболізму, тяжко обпечені.

EXAMINING THE ADAPTIVE IMMUNITY DYNAMICS IN SEVERE BURNS TREATMENT

O. M. KLIMOVA, O. V. KRAVTSOV, L. A. DROZDOVA, T. A. KURBANOV, A. O. GOPKO

The change of indices of cell and humoral links of immune response and the products of metabolism in the severely burnt individuals has been discovered. Functional neutrophil deficiency, disordered ratio of subpopulations of CD4⁺ lymphocytes and cytotoxic lymphocytes CD8⁺, low levels of ceruloplasmin, high concentration of circulating immune complexes of molecule fractions with average molecular weight have been revealed.

Key words: burns, immune response, metabolic disorders, severe burns.

Опікова травма є одним із найбільш тяжких видів травматизму [1], що супроводжується пошкодженням шкірних покривів, вираженою інтоксикацією, частими інфекційними ускладненнями. Запалення, що розвивається при термічній травмі, є типовим патологічним процесом, який включає місцеві альтеративні, судинно-ексудативні та репаративні реакції із залученням великої кількості клітин шкіри, а також системні зміни з боку клітинних та гуморальних факторів крові,

органів та систем організму [2–4]. Сприятливий результат ранового процесу великою мірою залежить від стану системи неспецифічного захисту та імунної реактивності організму [5]. У зв'язку з цим визначення стану різних ланок імунітету має важливе практичне значення, оскільки дає змогу прогнозувати перебіг травматичної хвороби, ризик розвитку інфекційних ускладнень, а також оцінити ефективність лікування, що проводиться.

Мета нашого дослідження — вивчити динаміку показників адаптивного імунітету при лікуванні тяжкообпечених.

Для виконання імунологічних досліджень 15 пацієнтів з опіковою хворобою було розподілено на дві групи залежно від її перебігу: першу — 11 пацієнтів із повним відновленням шкірного покриву; другу — із летальним кінцем у гострому періоді (група порівняння).

Вік пацієнтів першої групи варіював від 32 до 58 років, серед них чоловіків було 7 (63,6 %), жінок — 4 (36,4 %). Термічними агентами у цій групі були полум'я в 10 (90,9 %) випадках і окріп — в 1 (9,1 %). У пацієнтів першої групи загальна площа термічного ураження становила від 15 до 35 % поверхні тіла (п. т.) (у середньому 25,7 % п. т.), глибокі опіки — від 5 до 25 % п. т. (у середньому 18,4 % п. т.).

У другій групі із 3 (75,0 %) чоловіків та 1 (25,0 %) жінки віком від 34 до 84 років опіки були спричинені полум'ям. У цих постраждалих загальна площа термічного ураження становила від 15 до 80 % п. т. (у середньому 40,4 % п. т.), глибокі опіки — від 10 до 60 % п. т. (у середньому 28,6 % п. т.).

Терміни госпіталізації у стаціонар в обох групах становили до 2 год із моменту травми. Інфузійна й медикаментозна терапія опікового шоку визначалася масштабом термічного ураження постраждалих. В основу інфузійної терапії опікового шоку було покладено клінічні протоколи надання медичної допомоги хворим з опіками та їх наслідками, введені в дію наказом МОЗ України від 07.11.2007 р. № 691 [6]. Для розрахунку рідини протягом першої доби опікового шоку використовувалася формула Паркланда.

Пацієнтам першої групи після стабілізації загального стану та основних показників на 2-гу або 3-тю добу виконували первинну некректомію ножем Хамбі до умовно життєздатних тканин на площі не більш ніж 15 % п. т. одночасно. Після відповідної підготовки та повного очищення ран від залишків некротичних тканин, формування оптимального грануляційного покриву, зменшення ексудації на 5–6-ту добу починали оперативне втручання, спрямоване на відновлення шкірного покриву шляхом вільної аутодермопластики за допомогою електричних дерматомів ДК-717.0.00 і 717.0.02 (Тернопіль, Україна). У подальшому пацієнтам із глибокими опіками проводились етапні некректомії з наступними аутодермопластиками. У пацієнтів першої групи імунологічне дослідження виконувалося на 1-шу, 3-тю, 7-му, 14-ту, 21-шу добу на тлі комплексної інфузійно-трансфузійної, медикаментозної терапії та хірургічного лікування.

В обпечених другої групи на фоні комплексної протишокової терапії відбулася декомпенсація зі смертельним наслідком. Їм імунологічне дослідження проводилося тільки на 1-шу та 3-тю добу у зв'язку з летальним кінцем.

Постраждалим обох груп за наявності циркулярних глибоких опіків у перші 40 хв із моменту надходження до відділення виконувалася некрофасціотомія з метою декомпресії.

Оцінка імунного статусу включала показники клітинної й гуморальної ланок імунної відповіді. Фагоцитарна активність нейтрофілів відзначалася методом, що ґрунтується на кількісному визначенні поглинальної та перетравлювальної здатності нейтрофілів по відношенню до *Saccharomyces cerevisiae*. Розраховували фагоцитарний індекс (ФІ) — відсоток нейтрофілів, що беруть участь у фагоцитозі, від їх загальної кількості; фагоцитарне число (ФЧ) — середню кількість мікроорганізмів, поглинутих одним нейтрофілом, й індекс завершеності фагоцитозу (ІЗФ), тобто коефіцієнт ФЧ, який характеризує здатність фагоцитів до перетравлення [7].

Визначення вмісту церулоплазміну (ЦП) проводили фотометричним методом за Равіном. При додаванні п-фенілендіаміну до ЦП відбувається ферментативна реакція окислення, яка інактивується фторидом натрію. Вміст ЦП визначають за інтенсивністю зафарбовування продукту реакції на спектрофотометрі СФ-46 (СПб, РФ) при довжині хвилі 540 нм [8].

Вміст молекул середньої молекулярної маси (МСММ) встановлювали на спектрофотометрі, визначаючи величину екстинкції, при довжинах хвиль 238, 254, 260 і 280 нм за методикою Габрієлян [9]. Концентрацію МСММ виражали в оптичних одиницях центрифугату, отриманого після осадження білків плазми 10%-вим розчином трихлороцтової кислоти. При довжині хвилі 238 нм отримували фракцію, що містить олігопептиди, при довжині хвилі 254 нм — фракцію, яка відображає рівень проміжних продуктів інтенсивного протеолізу, при довжині хвилі 280 нм — нуклеотидну фракцію, при довжині хвилі 280 нм — фракцію, що містить ароматичні хроматофори.

Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові оцінювали після інкубації зразків у боратному буфері й поліетиленгліколі (ПЕГ) при кімнатній температурі. Під час інкубації відбувалася преципітація ЦІК на ПЕГ, що позначалося на зміні оптичної щільності зразків. Оптичну щільність вимірювали методом спектрофотометрії на СФ-46 при довжині хвилі 450 нм проти боратного буфера [10].

Для оцінки експресії кластерів диференціювання CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ застосовано непрямий імуофлюоресцентний метод із використанням моноклональних антитіл, мічених FITC-барвником.

За результатами вивчення фагоцитарної ланки імунітету у пацієнтів із рановими процесами опікового генезу виявлено в першій групі підвищену поглинальну здатність нейтрофільних гранулоцитів протягом 1–14-ї доби з моменту травмування. На 21-шу добу спостерігалася нормалізація цього показника, при цьому перетравлювальна здатність фагоцитів була знижена протягом усього періоду

Таблиця 1

Фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів у пацієнтів із опіковою травмою

Група	Доба з моменту травми	Імунологічні показники		
		ФІ, %	ФЧ	ІЗФ
Референтні значення		85,1±5,10	3,2±0,2	1,85±0,12
Перша	1-ша	86,7±1,50	4,1±0,4	0,8±0,10
	3-тя	85,7±0,45	4,4±0,6	0,8±0,05
	7-ма	86,3±0,45	3,9±0,4	0,9±0,05
	14-та	83,0±0,60	3,9±0,5	0,9±0,50
	21-ша	86,1±1,00	3,3±0,5	1,0±0,10
Друга	1-ша	75,3±3,90	3,0±0,4	0,8±0,04
	3-тя	83,0±3,00	3,9±0,3	0,9±0,10

лікування. У другій групі пацієнтів на 1-шу добу після опікової травми ФІ був знижений і становив 75,3±3,9 % при референтних значеннях 85,1±5,1 % на тлі низьких поглинальної (ФЧ) та перетравлювальної (ІЗФ) можливостей нейтрофільних гранулоцитів. На 3-тю добу після травми у частини цих пацієнтів спостерігалось значне підвищення ФІ (до 92,3±3,3 %) та ФЧ (до 4,3±0,2).

Кількісна й функціональна недостатність нейтрофільної ланки імунної системи, що відзначається у другій групі, може розглядатися як фактор ризику інфекційних процесів [11–15].

Зміни у функціонуванні нейтрофільних гранулоцитів можуть призвести до персистенції інфекційного агента, порушення елімінації антигенів та імунних комплексів з організму та в результаті – до обтяження основного патологічного процесу [12].

На активність фагоцитів впливає білок з антиоксидантною активністю – ЦП, який є фізіологічним інгібітором ферменту мілопероксидази нейтрофілів, що має потужну бактерицидну активність і генерує кисневі радикали [16]. Серед різноманітних функцій ЦП можна виділити основні, що впливають на імунореактивність організму:

Вміст церулоплазміну в пацієнтів з опіковою травмою

Група	Доба з моменту травми	ЦП, мг/л
Референтні значення		315,0±12,3
Перша	1-ша	185,5±22,5
	3-тя	278,5±25,8
	7-ма	374,2±67,7
	14-та	376,2±19,3
	21-ша	473,4±20,4
Друга	1-ша	136,8±22,2
	3-тя	137,1±32,7

антиоксидантну, участь у гострофазних реакціях, регуляцію рівня біогенних амінів в організмі [17].

Під час дослідження вмісту ЦП у пацієнтів з опіковою травмою було показано, що його концентрація у постраждалих обох груп була значно нижчою за референтні значення в 1-шу добу, при цьому це виявилось більш вираженим у другій групі. При вивченні концентрації цього білка в динаміці у першій групі спостерігалось її підвищення та досягнення нормальних значень на 7-му добу після травми, у пацієнтів другої групи вміст ЦП залишався низьким у всі періоди дослідження (табл. 2).

У рамках формування запального процесу відбувається накопичення біологічно активних сполук, які за нормальних умов метаболізуються, а при порушенні цього процесу призводять до формування синдрому ендогенної інтоксикації. Відомо, що перенапряга адаптаційних механізмів, зрив компенсації, незбалансованість реакцій на біомолекулярному рівні призводять до структурно-метаболических змін, що спричиняють розвиток порушень гомеостазу в організмі [18]. Це зумовлено тим, що до складу речовин середньомолеку-

Таблиця 3

Вміст фракцій молекул середньої молекулярної маси у пацієнтів із опіковою травмою

Група	Доба з моменту травми	МСММ, од. Е			
		$\lambda = 238$	$\lambda = 254$	$\lambda = 260$	$\lambda = 280$
Референтні значення		0,620±0,012	0,240±0,011	0,240±0,010	0,250±0,018
Перша	1-ша	0,606±0,026	0,318±0,004	0,314±0,001	0,353±0,009
	3-тя	0,511±0,035	0,318±0,015	0,315±0,020	0,334±0,016
	7-ма	0,541±0,060	0,332±0,011	0,334±0,007	0,368±0,009
	14-та	0,610±0,088	0,321±0,041	0,313±0,036	0,359±0,048
	21-ша	0,645±0,013	0,313±0,021	0,304±0,011	0,347±0,030
Друга	1-ша	0,590±0,024	0,412±0,042	0,401±0,039	0,404±0,013
	3-тя	0,794±0,120	0,540±0,233	0,514±0,235	0,490±0,147

Таблиця 4

Вміст субпопуляцій Т-лімфоцитів у пацієнтів з опіковою травмою

Група	Доба з моменту травми	Вміст субпопуляцій Т-лімфоцитів						ІРІ
		CD3 ⁺		CD4 ⁺		CD8 ⁺		
		%	абс. ч.	%	абс. ч.	%	абс. ч.	
Референтні значення		54,9±6,1	1,160±0,900	34,8±5,0	0,560±0,032	23,6±2,6	0,320±0,103	2,2±0,3
Перша	1-ша	28,7±2,4	0,363±0,131	15,0±2,0	0,176±0,029	13,7±3,8	0,187±0,102	1,3±0,6
	3-тя	37,0±5,3	0,393±0,131	17,3±1,8	0,180±0,040	19,7±3,8	0,213±0,110	0,9±0,2
	7-ма	40,7±5,6	0,590±0,060	23,7±6,2	0,336±0,042	17,0±2,7	0,253±0,071	1,5±0,4
	14-та	38,3±6,4	0,710±0,166	20,7±6,2	0,386±0,142	17,7±0,4	0,324±0,024	1,2±0,4
	21-ша	41,2±4,4	0,545±0,045	25,5±6,5	0,325±0,025	15,5±2,5	0,220±0,070	1,8±0,7
Друга	1-ша	41,0±8,7	0,416±0,075	20,3±6,9	0,196±0,042	20,7±2,2	0,216±0,510	0,9±0,3
	3-тя	42,0±10,0	0,510±0,233	24,0±10,7	0,276±0,137	18,0±6,0	0,233±0,171	1,6±1,1

лярної маси входять продукти катаболізму білків, олігопептиди, похідні глюкуронових кислот, нуклеотиди, біологічно активні речовини, які самі можуть мати шкідливий і токсичний вплив на мембрани клітин, збільшувати проникність судин, спричиняти тканинну гіпоксію [19]. При ендогенній інтоксикації спостерігаються виражені зміни імунного статусу, які, як правило, проявляються імунодепресією [20, 21]. Ключову роль у розвитку синдрому грають активовані нейтрофіли [22, 23] і медіатори різних типів.

Під час дослідження різних фракцій МСММ було показано, що в першій групі обпечених олігопептидна фракція ($\lambda = 238$) перебувала в межах референтних значень, при цьому пептидна, нуклеотидна фракції та фракція ароматичних амінокислот були підвищені у всі терміни обстеження з тенденцією до зниження. У другій групі на 1-шу добу після травми вміст олігопептидної фракції не відрізнявся від референтних величин, тоді як на 3-тю добу значно підвищувався і становив $0,794 \pm 0,120$ од. Е (табл. 3). Концентрація пептидної та нуклеотидної фракцій, фракції ароматичних амінокислот значно перевищувала як референтні величини, так і цей показник у пацієнтів першої групи на 1-шу добу після травми. Надалі було відзначено негативне підвищення вмісту цих фракцій, що свідчить про посилення вираженості процесів клітинної деструкції та катаболічних реакцій, а також зниження детоксикаційної здатності організму (табл. 3).

Спостерігалось максимальне зниження вмісту субпопуляцій Т-лімфоцитів CD3⁺, CD4⁺ та CD8⁺ у 1-шу добу після опікової травми у пацієнтів першої групи. Від 7-ї до 21-ї доби у них зафіксовано підвищення рівня всіх субпопуляцій Т-лімфоцитів (табл. 4).

У пацієнтів другої групи у 1-шу добу після травми на тлі низького вмісту CD3⁺ та CD4⁺ лімфоцитів спостерігається порушення співвідношення Т-хелперів та цитотоксичних лімфоцитів CD8⁺, про що свідчить низький рівень імунорегляторного індексу (ІРІ) – $0,9 \pm 0,3$ (табл. 4).

Результати дослідження концентрації та константи ЦІКк показали підвищення його рівня в обох групах, при цьому в другій розміри комплексів були патогенні, на що вказує низький рівень ЦІКк.

Таблиця 5

Вміст циркулюючих імунних комплексів у пацієнтів з опіковою травмою

Група	Доба з моменту травми	ЦІК, од. Е	ЦІКк
Референтні значення		98,3±21,1	1,3±0,20
Перша	1-ша	122,3±5,1	1,0±0,10
	3-тя	109,3±6,1	0,9±0,05
	7-ма	252,7±84,1	0,9±0,03
	14-та	149,3±7,8	1,0±0,10
	21-ша	151,5±3,9	0,95±0,05
Друга	1-ша	116,7±25,8	0,8±0,10
	3-тя	138,0±43,7	1,0±0,05

Таким чином, функціональна недостатність нейтрофільної ланки, що була виявлена у тяжко обпечених другої групи, призводить до порушення елімінації ЦІК з організму, а також може розглядатися як фактор ризику інфекційних процесів та призводить до обтяження основного патологічного процесу.

Низький рівень ЦП у пацієнтів першої групи у 1-шу добу після опікової травми та другої групи у всі терміни обстеження може сприяти підвищенню рівня утворення супероксид-аніонів, здатних чинити пряму деструктивну дію на клітинні структури.

Велика концентрація пептидної, нуклеотидної фракцій і фракції ароматичних амінокислот у постраждалих другої групи свідчить про високий рівень катаболічних реакцій та процесів клітинної деструкції, що призводить до зниження детоксикаційної здатності організму. При розвитку альтерації після травми зміни обміну речовин у процесі

запалення включають інтенсифікацію процесу розпаду вуглеводів, жирів і білків як результат впливу лізосомних гідролаз; посилення анаеробного гліколізу й тканинного дихання; роз'єднання процесів біологічного окислення, в результаті чого розвивається довготривалий виражений метаболічний ацидоз [24]. Значне накопичення оліго- і монопептидів у пацієнтів другої групи у процесі протеолізу

поліпептидів активованими лізосомальними гідролазами, що вивільнялися в умовах ацидозу, сприяє зростанню онкотичного тиску, що, у свою чергу, посилює гіпоксичний стан тканин і може призвести до розвитку ішемії та компартмент-синдрому. Визначення динаміки показників імунореактивності та метаболізму дає змогу оптимізувати терапію шляхом корекції виявлених порушень.

Список літератури

1. Изменения иммунного статуса у пострадавших от ожогов, в том числе при массовых катастрофах / В. М. Земсков и др. *Вестн. экспериментальной и клинической хирургии*. 2013. Т. VI, № 1. С. 9–18.
2. Burn: An inflammatory process / F. Ravat et al. *Pathol. Biol.* 2011. Vol. 59 (3). P. 63–72.
3. *Smahel J.* Pathophysiology of the burn wound. *Handchir. Mikrochir. Plast. Chir.* 1985. Vol. 17 (6). P. 340–342.
4. *Осиков М. В., Долгушин И. И.* Патогенетическое обоснование применения эпидермального фактора роста при термической травме. М.: Академия Естествознания, 2013. 151 с.
5. Иммунные расстройства и их коррекция при гнойно-воспалительных процессах / А. М. Земсков и др. М.: Триада-Х, 2007. 159 с.
6. Наказ МОЗ України від 07.11.2007 № 691 «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги хворим з опіками та їх наслідками». URL: http://zakononline.com.ua/documents/show139460_39460
7. *Долгушин И. И., Бухарин О. В.* Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург, 2001. 256 с.
8. *Камышиников В. С.* Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: МЕДпресс-информ, 2004. 920 с.
9. *Шиманко И. И., Габриэлян Н. И., Милашенко А. П.* Оценка токсичности сред организма при острой эндогенной интоксикации. *Тер. архив*. 1982. № 9. С. 8–11.
10. *Константинова Н. А., Лаврентьев В. В., Побединская Л. К.* Определение концентрации и молекулярной массы ЦИК. Сообщение II. Определение исследуемых характеристик ИК в сыворотках больных и здоровых людей. *Лабораторное дело*. 1986. № 8. С. 487–490.
11. *Матлан В. Л.* Профилактика та лікування інфекційних ускладнень онкогематологічних хворих. *Укр. журн. гематології та трансфузіології*. 2006. № 6 (6). С. 5–15.
12. *Маянский А. Н., Пикуза О. И.* Клинические аспекты фагоцитоза. Казань: Магариф, 1993. 122 с.
13. Механизм нарушения фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов при острых гнойных хирургических заболеваниях / О. Г. Цой и др. *Аллергология и иммунология*. 2003. Т. 4, № 2. С. 150.
14. *Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Ярилин А. А.* Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 352 с.
15. Функциональная характеристика зрелых нейтрофилов периферической крови больных хроническим миелолейкозом / В. Н. Блиндарь и др. *Гематология и трансфузиология*. 2002. Т. 47, № 2. С. 13–16.
16. *Kallenberg C.* Antineutrophil antibodies with specificity for Myeloperoxidase / Y. Shoenfeld, M. E. Gershwin, P. L. Meroni. Autoantibodies, Eds., Elsevier, Oxford, UK, 2nd ed., 2007. P. 95–103. doi: <https://doi.org/10.1016/b978-044452763-9/50017-2>
17. *Ващенко В., Ващенко Т.* Биология и фармакология церулоплазмينا: от эксперимента до лекарственной терапии. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2008. Т. 6, № 1. С. 31–44.
18. *Shmoilov D. K., Karimov I. Z., Odinets T. N.* Pathogenetic role of endogenous intoxication. *Laboratory diagnostics*. 2012. № 2. P. 65–69.
19. *Оболенский С. В., Малахова М. Я., Ершов А. Л.* Диагностика стадий эндогенной интоксикации и дифференцированное применение методов эфферентной терапии. *Вестник хирургии*. 1991, № 3. С. 95–100.
20. *Уракова Т. Ю., Лысенкова Н. С.* Эндогенная интоксикация и адаптационные возможности у пациентов с ожирением. *Международный журн. прикладных и фундаментальных исследований*. 2009. № 5. С. 39–46.
21. *Вервега Б. М.* Імунний статус і динаміка показників синдрому ендогенної інтоксикації при експериментальному гострому поширеному перитоніті на тлі стрептозотоциніндукованого цукрового діабету. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23, № 2. С. 15–21. doi: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2021.i2.12175>
22. *Пасечник И. Н.* Окислительный стресс и критические состояния у хирургических больных. *Вестн. интенсивной терапии*. 2004. № 3. С. 27–30.
23. Интенсивная терапия синдрома эндогенной интоксикации у пострадавших от тяжелых термических ожогов / Н. М. Шулаева, Е. В. Кусниц, В. В. Щуковский, Н. В. Островский. *Неотложная медицинская помощь*. 2013. № 1. С. 27–32.
24. *Висмонт Ф. И.* Воспаление (патофизиологические аспекты): учеб.-метод. пособ. Мн.: БГМУ, 2006. 48 с.

Надійшла 01.12.2021